

Aus dem Institut für Klinische Physiologie, Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. K. Hierholzer

IN VIVO-EXPERIMENTE ZUR AUFKLÄRUNG DES
ENTSTEHUNGSMECHANISMUS DER TRANS-
EPITHELIALEN ELEKTRISCHEN POTENTIAL-
DIFFERENZ AM RECTUMEPITHEL DER RATTE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karsten Krochmann, Berlin

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548402_0061

Aus dem Institut für Klinische Physiologie, Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. K. Hierholzer

IN VIVO-EXPERIMENTE ZUR AUFKLÄRUNG DES
ENTSTEHUNGSMECHANISMUS DER TRANS-
EPITHELIALEN ELEKTRISCHEN POTENTIAL-
DIFFERENZ AM RECTUMEPITHEL DER RATTE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karsten Krochmann, Berlin

Referent: Prof.Dr.med. Dr.rer.nat. U. Hegel

Korreferent: Prof.Dr.med. G. Siegel



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 1. 12. 1978

In vivo-Experimente zur Aufklärung des Entstehungs-
mechanismus der transepithelialen elektrischen Poten-
tialdifferenz am Rectumepithel der Ratte

G l i e d e r u n g

1. Einleitung
2. Methoden
 - 2.1. Tiere, Diät
 - 2.2. Narkose
 - 2.2.1. Standardnarkose (Inactin^R)
 - 2.2.2. Streßarme Narkose (Halothan plus Inactin^R)
 - 2.3. Operationsmethoden
 - 2.3.1. Lagerung
 - 2.3.2. Trachealkanüle
 - 2.3.3. Carotiskatheter
 - 2.3.4. Distale Rectumpräparation
 - 2.3.5. Ureterpräparation
 - 2.3.6. Darmpräparation, Perfusions- und Instillationstechnik
 - 2.4. Vorgehen bei der wachen Ratte im Langzeitversuch
 - 2.5. Messung der tepd
 - 2.6. Bestimmung des transepithelialen Widerstandes
 - 2.6.1. Prinzip der Widerstandsmessung mit Wechselstrom
 - 2.6.2. Konstruktions- und Einbaubeschreibung des intraluminalen Elektrodenträgers
 - 2.7. Kontrollgrößen
 - 2.7.1. Temperatur
 - 2.7.2. Blutdruck, Herz- und Atemfrequenz
 - 2.7.3. Gewicht

3. Ergebnisse
 - 3.1. Na/K-Quotient im Ureterharn in Beziehung zum transepithelialen Potentialanstieg (Versuchstyp 1)
 - 3.2. Einfluß des Narkosestreß auf den zeitlichen Verlauf der tepd (Versuchstyp 2)
 - 3.3. Einfluß von NaCl- und Cholinchlorid-Lösung auf die tepd (Versuchstyp 3)
 - 3.4. Verhalten der tepd bei der nichtnarkotisierten Ratte im Langzeitversuch (Versuchstyp 4)
 - 3.5. Verhalten des spezifischen Widerstandes der Rectumwand während des Anstiegs der tepd (Versuchstyp 5)
4. Diskussion
 - 4.1. Bauchhöhlen- und Darmpräparation
 - 4.2. Natrium/Kalium-Quotient (Versuchstyp 1)
 - 4.3. Einfluß des Narkosestreß (Versuchstyp 2)
 - 4.4. Instillations-/Perfusionslösungen (Versuchstyp 3)
 - 4.5. Langzeitversuche (Versuchstyp 4)
 - 4.6. Bestimmung des transepithelialen Widerstandes (Versuchstyp 5)
 - 4.6.1. Methode
 - 4.6.2. Ergebnisse
5. Zusammenfassung
6. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

Edmonds und Marriott (16, 23) haben am Dickdarm der Ratte eine mit der Dauer der Narkose ansteigende transepitheliale Potentialdifferenz (tepd) nachgewiesen. Sie zeigten außerdem, daß das aborale Ende dabei stärker reagiert als das orale. Fromm (36) konnte durch Unterteilung einzelner Abschnitte in in vivo-Experimenten demonstrieren, daß der von Edmonds und Marriott gefundene Effekt auf die letzten 4 - 5 cm des Dickdarmes beschränkt ist. Dieser Abschnitt wird in der vorliegenden Arbeit in Übereinstimmung mit Fromm (36) als "Rectum" bezeichnet. Typischerweise wird in diesem Abschnitt folgendes beobachtet (Abb. 1): Nach einer Latenzphase von 60 - 150 min nach Beginn der Narkose steigt die Potentialdifferenz von Anfangswerten zwischen 2 und 6 mV (mucosale Ladung negativ gegenüber serosaler) zuerst linear an und erreicht dann in Form einer Sättigungskurve Maximalwerte bis zu 90 mV (eigene Messung). Andere Abschnitte des Intestinaltraktes zeigen einen solchen Potentialanstieg nicht. Im Folgenden ist mit tepd daher stets die des hier als Rectum definierten Abschnittes gemeint. Ein Anstieg der tepd des Dickdarms intakter wacher Individuen, ohne Applikation von Pharmaka oder Hormonen, ist bisher nur an Kaninchen beobachtet worden (46). Dabei wurde gefunden, daß Streß ("handling, wrapping") die tepd erhöhte. Untersuchungen am menschlichen Rectum führten bisher zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. An gesunden wachen Versuchspersonen fanden Efstratopoulos et al. (31) 5 - 13 mV, Geall et al. (38) 16 mV, Dalmark (12) 39 mV sowie Edmonds und Godfrey (20) 4 - 51 mV (bei allen Autoren Lumen negativ). Nur Efstratopoulos et al. (31) haben dabei über einen Zeitraum von 600 min mehrfach gemessen. Bei allen genannten Autoren

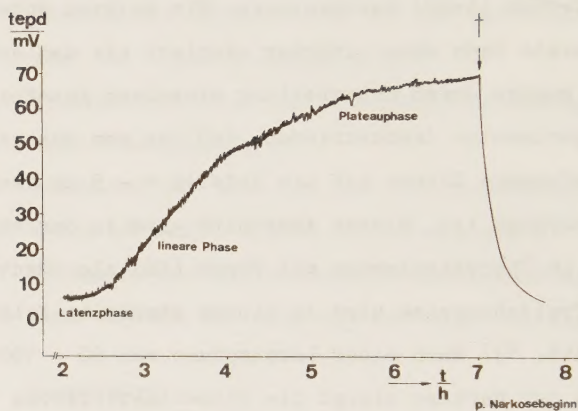


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf der tepd am Rectum der Ratte, Originalregistrierung; die tepd ist Lumen negativ gegenüber Interstitium.
Bei †Tötung der Ratte durch intraarterielle Injektion von Pentobarbital

bleibt offen, ob die publizierten Daten Momentanwerte im übrigen zeitlich veränderlicher Potentialdifferenzen sind.

Folgende Ergebnisse über das Verhalten der tepd an Colon descendens und Rectum, welche meist nicht voneinander unterschieden wurden, sind bekannt: Herabsetzung des Na-Gehaltes der Ratte (Na-Verarmung) erhöht die tepd am Rattencolon (16, 17, 23, 28); Aldosteroninfusionen bei Ratte (21, 24, 54) und Mensch (20, 30, 31) lassen die tepd ebenfalls steigen. Adrenalektomie reduziert das Potential und schwächt die Antwort auf Na-Verarmung (21) ab. Diese Ergebnisse legen nahe, daß bei der Entstehung der hohen tepd am Rattenrectum Aldosteron eine Rolle spielt. Jedoch haben auch andere Faktoren Einfluß auf die tepd des Rectums, was einer ausschließlichen Erklärung des Potentialanstieges durch verstärkte Aldosteronsekretion widerspricht. So lassen Angiotensin II bei der Ratte (9, 13, 14, 17, 42) und beim Menschen (30, 31), β -Rezeptorenstimulation durch Isoprenalin beim Kaninchen (46), Lithiumionen im Darmperfusat (50) beim Menschen, und in vitro auf der Serosa aufgebrachte Gallensäuren (53) die tepd ebenfalls steigen.

Der Anstieg der tepd nach Aldosterongabe und Na-Verarmung scheint an die Anwesenheit von Trijodthyronin gebunden zu sein (29). Derselbe Autor fand in vitro keinen Effekt von Aldosteron auf die tepd. Anoxie, Cyanid, Ouabain und Iodoazetat setzen die tepd herab (22). Das an der Niere bekannte "Escape"-Phänomen nach länger erhöhter Aldosteronkonzentration konnte für die tepd am Darm nicht beobachtet werden (24, 54). Durch Gabe von Proteinsynthesehemmern, wie Acti-

nomycin D, 5-Fluorouracil und Cycloheximid, wurde der Potentialanstieg bei Na-Verarmung nicht verhindert (19).

Spironolakton, 2 Tage vor akuter Aldosteronapplikation gegeben, verhindert einen Anstieg der tepd (24). Erniedrigung der Na-Konzentration in der Perfusionsflüssigkeit senkt die tepd sowohl bei der Ratte (3, 15, 18, 21, 22, 25, 26) als auch beim Menschen (27).

Die Beobachtung und Registrierung des Potentialanstiegs war in allen publizierten Untersuchungen an folgende Gegebenheiten geknüpft:

- a) an eine Perfusion, bzw. Instillation von luminalen Lösungen mit einer im Vergleich zum physiologischen Darminhalt hohen NaCl-Konzentration
- b) an eine Narkotisierung des Tieres

Die vorstehend referierten Befunde lassen folgende Fragen unbeantwortet:

1. Wenn hauptsächlich Aldosteron für den Anstieg der rectalen tepd verantwortlich ist, dann müßte die tepd mit einer Abnahme des Na/K-Quotienten im Urin korrelieren, da die Wirkung des Aldosterons darauf gesichert ist.
2. Ist der gemessene Potentialanstieg ein an die Narkose gekoppelter Vorgang, und welche Rolle spielt der dabei auf das Tier ausgeübte Streß?
3. Induziert die Perfusion von NaCl-Lösung einen tepd-Anstieg?
4. Ist die Veränderung der transepithelialen Spannung Ausdruck einer Veränderung der Stromstärke oder des spezifischen Widerstandes des Epithels?

Zur Untersuchung dieser Fragestellungen wurden Versuche von 5 verschiedenen Typen durchgeführt, deren wesentliche Parameter in Tabelle 1 zusammengestellt sind.

Tabelle 1: Übersicht über die ausgeführten Experimente

Versuchstyp (Stichwort)	Versuchsziel	Narkose	Perfusion	Instillation	Gemessene Parameter
1 "Na/K-Quotient"	Korrelation des zeitlichen Verlaufes von $[Na^+]$, $[K^+]$ und $[K^+]$ im Urin mit der tepd im Rectum	Inactin ^R	Ringerlösung		tepd, $[Na^+]_u$, $[K^+]_u$ P_a , P_p , V_l , T
2 "streßarme Narkose"	Einfluß der Streßbelastung bei der Narkoseeinkleitung	1. Halothan ^R 2. Inactin ^R		NaCl 0,9 %	tepd, T
3 "Na-Abhängigkeit"	Induzierende Wirkung einer intraluminalen NaCl-Lösung auf die tepd	Inactin ^R		NaCl 0,9 %, 150 mmolare Cholinchlorid-Lösung	tepd, T
4 "wache Ratte"	Verhalten der tepd an der wachen Ratte im Langzeitversuch	keine		NaCl 0,9 %	tepd
5 "Leitfähigkeit"	Verhalten des spezifischen Widerstandes des Rectumepithels	Inactin ^R	Ringerlösung		tepd, P_a , P_p , f_H , f_A , T , $\tilde{I}$, $\tilde{U}$, f

$[Na^+]_u$, $[K^+]_u$: Elektrolytkonzentration im Ureterharn
 tepd: transepitheliale Potentialdifferenz (Gleichspannung)
 $\cdot 1$ Harnfluß im linken Ureter
 V_u : arterieller Blutdruck
 P_a : Perfusionsdruck des Rectums
 P_p :
 T : Temperatur (Kerntemperatur des Tieres)
 f_H : Herzfrequenz
 f_A : Atemfrequenz
 $\tilde{U}$, $\tilde{I}$, f : Spannung, Strom und Frequenz bei elektrischer Widerstandsmessung mit Wechselstrom

2. Methoden

2.1. Tiere, Diät

Als Versuchstiere dienten männliche Albino-Wistarratten. (Lieferant: Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover). Die Zeit zwischen Lieferungsdatum und Versuch betrug 3 - 18 Tage, während derer die Tiere freien Zugang zu Wasser und zu Altromin Standard-Rattenfutter (Firma Altrogge, Lage/Lippe) hatten. Das Gewicht der Versuchstiere lag zwischen 190 g und 290 g. Da die Ratten bei der provisorischen Tierhaltung im Klinikum Steglitz anfällig gegen Erkrankungen des Respirationstraktes waren, wurden nur solche Tiere in den Versuch genommen, bei denen keine Nebengeräusche bei der Atmung zu hören waren.

2.2. Narkose

2.2.1. Standardnarkose (Inactin^R)

Als Narkosemittel bei der normalen Narkose diente das Barbiturat Inactin^R (Firma Byk Gulden, Konstanz), das jeweils vor Versuchsbeginn frisch angesetzt wurde (120 mg in 1 ml 0,9%iger NaCl-Lösung). Als Dosis wurde 120 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert.

2.2.2. "Streßarme Narkose" (Halothan plus Inactin^R)

Da nach der Theorie von Edmonds und Marriott (24) der durch die Narkotisierung der Tiere hervorgerufene Streß einen wesentlichen Reiz zur Ausschüttung von Aldosteron darstellt, wobei der Anstieg der Plasmakonzentration dieses Hormons dann den tepd-Anstieg induzieren soll, wurde versucht, durch besonders behutsames Narkotisieren die Belastung des Versuchs-

tieres so niedrig wie möglich zu halten. Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Tiere wurden 5 - 6 Stunden vor Versuchsbeginn aus ihren Sammelkäfigen genommen und jeweils zu zweit in einen mit Zellstoff abgedeckten Käfig an einen ruhigen Platz im Labor gesetzt. In dieser Zeit war freier Zugang zu Wasser und Futter gewährleistet. Bei Versuchsbeginn wurde Halothan (Fluothan^R, Fa. Hoechst, Frankfurt/Main) in einer Konzentration von 3 Vol % zusammen mit Sauerstoff durch einen 60 cm langen Polyäthylenschlauch für 4 - 7 min in den abgedeckten Käfig geleitet. Die Tiere schliefen ohne Anzeichen von Erregung oder Streß ein. Anschließend wurde den narkotisierten Tieren Inactin^R (Dosis: 120 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal injiziert, um sie in Narkose zu halten, und die Halothanzufuhr abgestellt. Dieses Vorgehen wurde bei dem Versuchstyp 2 ("streßarme Narkose") gewählt. Die Narkosetiefe wurde durch fehlende Abwehrreflexe beim Berühren der Barthaare und Nase des Versuchstieres überprüft.

Bei der Benutzung der beiden Narkotika Inactin^R und Halothan wurde davon ausgegangen, daß diese Substanzen keinen Einfluß auf die tepd ausüben. Untersuchungen von Edmonds (17, 24) scheinen dies zu bestätigen. Selbst die intraperitoneale und direkte Applikation von Pentobarbital auf die mucosale Epitheloberfläche des Darms führte zu keiner Änderung des elektrischen Verhaltens (24).

2.3. Operationsmethoden

2.3.1. Lagerung

Die Ratten wurden gewogen und auf einem durch 37°C warmes

Wasser beheizbaren Tisch, der in Höhe und Neigungswinkel verstellbar war, auf dem Rücken gelagert.

2.3.2. Trachealkanüle

Im Anschluß an die Narkose wurde als erstes die Trachea freigelegt, eröffnet und eine 2,5 cm lange Polyäthylen-Trachealkanüle (Durchmesser: 2 - 3 mm) eingesetzt. Dieser Eingriff wurde bei allen narkotisierten Tieren vorgenommen. Die Kanülierung erfolgte, um einer barbituratbedingten Obstruktion zuvorzukommen und um absaugen zu können. Es ergab sich als Nebeneffekt eine Reduktion des anatomischen Totraumes. Durch individuelle Auswahl einer geeignet großen Kanüle wurde die Verminderung des trachealen Durchmessers klein gehalten und somit insgesamt die Ventilation günstig beeinflusst. Tabelle 6 (S.43) zeigt keinen signifikanten Unterschied in der Atemfrequenz zu Beginn und am Ende der Versuche, so daß eine respiratorische Einflußnahme auf die gemessenen Parameter unwahrscheinlich erscheint.

2.3.3. Carotiskatheter

Anschließend wurde die rechte Arteria carotis freipräpariert und durch Einsetzen eines dünnen Polyäthylen-Schlauches kanüliert. Das Kathetersystem war mit 0,9%iger NaCl-Lösung, welcher 50 000 Einheiten/l Heparin (Thrombophob^R, Fa. Nordmark-Werke GmbH, Hamburg) zugesetzt worden waren, gefüllt. Durch einen Druckaufnehmer (Typ P 23 Db, Meßbereich 0 - 760 mm Hg, Firma Statham, Los Angeles, CA., USA), der mit dem Katheter verbunden war, wurde fortlaufend der arterielle Blutdruck überwacht und auf einem 6-Kanal-Schreiber (Typ 1060, Firma Linseis, Selb/Bayern) registriert.

Auf luftblasenfreie Füllung des Systems wurde geachtet.

2.3.4. Distale Rectumpräparation

Von außen wurde ringförmig um den Anus herum eine Tabaksbeutelnaht gelegt. Es wurde darauf geachtet, daß der Faden außerhalb des Rectums verlief. Je nach Versuch (Tabelle 1) wurde dann der distale Schlauchteil des Perfusionssystems, bzw. der distale Teil des Plexiglas-Elektrodenhalters eingebunden (vgl. Abb. 2).

2.3.5. Ureterpräparation

Die Bauchhöhle wurde durch einen etwa 3 cm langen medialen Längsschnitt eröffnet. Anschließend wurde (nur Versuchsgruppe 1) der auf der dorsalen Wand der Bauchhöhle verlaufende linke Ureter aufgesucht. Ca. 15 mm vor Einmündung in die Blase wurde eine Ligatur gelegt, um ein retrogrades Herauslaufen von Urin in die Bauchhöhle bei Eröffnen des Ureters zu verhindern. Sodann wurde der Harnleiter proximal der Ligatur eröffnet, mit einem dünnen Polyäthylenschlauch katheterisiert und der Urin in ausgewogenen Plastiktöpfchen unter Öl aufgefangen. Die Töpfchen wurden in 20 - 40-minütigen Abständen ausgewechselt.

2.3.6. Darmpräparation, Perfusions- und Instillationstechnik

Bei dem Versuchstyp 1 ("Na/K-Quotient") wurde nach der Ureterpräparation, bzw. nach Bauchhöhleneröffnung bei den Versuchstypen 2 ("streßarme Narkose") und 5 ("Leitfähigkeit") das Colon descendens aufgesucht. Etwa 5 mm oralwärts der angenommenen Grenze zwischen Colon und Rectum wurde eine Ligatur gelegt, um während des Versuches ein Heraustrreten

von Kot in die Bauchhöhle zu verhindern. Dann wurde der Darm an der oben beschriebenen Grenze durch einen senkrecht zur Darmachse stehenden Schnitt eröffnet. Das zu untersuchende Darmsegment wurde von den darin enthaltenen Kotballen in der Weise gereinigt, daß vom Anus her vorsichtig 30 ml Flüssigkeit, welche vorher im Wasserbad auf $37,5^{\circ}\text{C}$ angewärmt worden war, durchgespült wurden. Da zu klären war, welchen Einfluß die Zusammensetzung der luminalen Lösung auf die Ausbildung einer tepd hat, wurden folgende 3 Lösungen alternativ verwendet:

- 1) $150\text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaCl-Lösung ($\rho = 55\ \Omega\text{ cm}, 37^{\circ}\text{C}$)¹⁾
- 2) $150\text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ Cholinchlorid-Lösung ($\rho = 60\ \Omega\text{ cm}, 37^{\circ}\text{C}$)
- 3) "Darm-Ringer"-Lösung folgender Zusammensetzung (hier nur "Ringer" genannt): ($\rho = 60\ \Omega\text{ cm}, 37^{\circ}\text{C}$, vergl. S. 53)
 Na^{+} : $145\text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
 K^{+} : $5\text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
 Cl^{-} : $120\text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
 HCO_3^{-} : $30\text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

Der Einfluß jeder dieser Lösungen auf die Ausbildung der Potentialdifferenz wurde untersucht. Die benutzte Cholinchlorid-Lösung ist auf Grund des in ihr enthaltenen Kations nicht resorbierbar. Diese Substanz wird auch von anderen Autoren als osmotischer Ersatz für NaCl verwendet (z.B. Edmonds, 25). Da nach den Beobachtungen von Curran und Schwartz (10) die tepd Ausdruck eines aktiven transepithelialen Na-Transportes ist (wobei auch die Sekretion von Kalium und Bicarbonat einen vergleichsweise geringen Anteil zum Potential beisteuert), sollte die Abwesenheit des Sub-

1) ρ = spezifischer Flüssigkeitswiderstand

strates die Entwicklung einer höheren tepd verhindern. Die verwendete Darmringerlösung enthielt Plasma-angeglichene Elektrolytkonzentrationen, die im Unterschied zu physiologischer NaCl-Lösung immer dann perfundiert wurde, wenn die Eliminierung von Diffusionspotentialen wichtig erschien. Wie bereits gezeigt wurde (36), führen die bei vorsichtiger Spülung für Sekundenbruchteile auftretenden Druckspitzen von max 30 cm H₂O zu keinen dauerhaften Potentialveränderungen des Darms. Während des Spülvorganges war das Tier so gelagert, daß keine aus dem offenen Ende des Darms austretende Flüssigkeit in die freie Bauchhöhle gelangen konnte.

Bei den Perfusionsversuchen des Versuchstyps 1 wurde der proximale Teil eines Schlauchsystems in den zu untersuchenden gereinigten Darmabschnitt eingebunden. Einzelheiten dazu sind aus Abb. 2 zu entnehmen.

Bei allen Manipulationen in der Bauchhöhle wurde auf folgende Dinge besonders geachtet:

- 1) Der Darm wurde weitestgehend in situ gelassen und nicht stark angehoben oder gar aus der Bauchhöhle herausluxiert.
- 2) Bei allen Ligaturen wurden keine sichtbaren Mesenterialgefäße abgebunden.

Bei den Versuchen des Types 2 ("streßarme Narkose") wurde auf eine Präparation des Rectums verzichtet. Es wurde nur die tepd gemessen. Die dafür benutzten NaCl/KCl-Agar-Brücken waren die gleichen, wie bei den anderen Versuchen beschrieben (s.S. 18). Die als indifferente Elektrode dienende Brücke wurde durch einen etwa 0,5 cm langen medialen Bauchschnitt

in die Peritonealhöhle eingeführt, während als differente Elektrode eine Brücke benutzt wurde, welche von anal her 3 cm in das Rectum vorgeschoben worden war. Um einen definierten Kontakt zwischen Darmepithel und Agar-Brücke zu gewährleisten, wurden 2 ml einer 0,9%igen NaCl-Lösung, die im Wasserbad auf 37,5° C erwärmt worden war, durch einen 0,5 mm starken flexiblen Polyäthylenschlauch vorsichtig in das Rectum injiziert und dieser Schlauch dann zurückgezogen.

Bei dem Versuchstyp 3 ("Na-Abhängigkeit") wurde die Bauchhöhle präpariert, das Colon descendens in beschriebener Weise unter Schonung des übrigen Magen-Darm-Kanals freigelegt und ca. 4 - 5 cm oralwärts des Anus unterbunden. Anschließend wurde der Darm unterhalb der Ligatur durch einen den Umfang zu etwa 3/4 umfassenden Querschnitt eröffnet, in beschriebener Weise gespült, und dann ein 10 cm langes Silikon-Schlauchstück (Typ K 517, innerer Durchmesser 4 mm) eingebunden. Am freiliegenden Ende des Schlauchstückes befand sich ein Dreiwegehahn, welcher es ermöglichte, verschiedene Lösungen in das Rectum zu leiten und zugleich den Druck über ein Steigrohr zu messen. Der Anus war dabei nicht verschlossen. Durch diese Anordnung wurde gewährleistet, daß Spülungen von oral her über das Schlauchstück mit Austritt der Spülflüssigkeiten aus dem Anus möglich wurden. Während des Spülvorganges wurde der im Rectum herrschende Druck über das Steigrohr kontrolliert. Es wurde darauf geachtet, daß der Druck nicht den Wert von 5 cm H₂O überstieg.

Im Anschluß an die Präparation des Rectums wurde zweimal nacheinander entweder mit 50 ml 0,9%iger NaCl-Lösung oder

mit der gleichen Menge 150 mmolarer Cholinchlorid-Lösung gespült (vgl. Abb. 3). Die benutzten Lösungen waren im Wasserbad erwärmt worden. Die am Anus austretenden Lösungen wurden mit Zellstoff aufgefangen, so daß das Tier nach den Spülungen trocken war. Anschließend wurde die tepd mit den eingesetzten Brücken kontinuierlich registriert.

20 min nach der letzten Spülung wurde bei beiden Versuchsserien das Rectum nochmals mit jeweils 2 x 50 ml 150 mmolarer Cholinchlorid-Lösung zur Entfernung des sich im Darm befindlichen NaCl perfundiert. Nach 150 min wurde das Rectum beider Kollektive, d.h. sowohl die mit NaCl- als auch die mit Cholinchlorid-Lösung "vorbehandelten" Tiere, nochmals mit 50 ml angewärmter 0,9%iger NaCl-Lösung durchgespült. Die Potentialänderung über der Zeit - in diesen Versuchen ein plötzlicher Sprung- wurde registriert (vgl. Abb. 3).

2.4. Vorgehen bei der wachen Ratte im Langzeitversuch (Versuchstyp 4)

Bei diesen Experimenten wurden zwei Ratten verwendet, welche mit Farbband markiert waren und entsprechend ihrer Markierung "Grün" und "Braun" genannt wurden. Für die Versuche wurden beide Tiere in je einen gleichartigen Stoffwechselkäfig aus Plexiglas gesperrt, in dem sie sich nur wenig bewegen konnten, jedoch freien Zugang zu Wasser und Futter hatten. Beide Käfige wurden für die Dauer der Versuche nebeneinander aufgestellt und mit je einer Lage Zellstoff abgedeckt. Auf diese Weise waren für beide Tiere gleiche Versuchsbedingungen gewährleistet. Die tepd wurde, wie unter 2.5. beschrieben, gemessen.

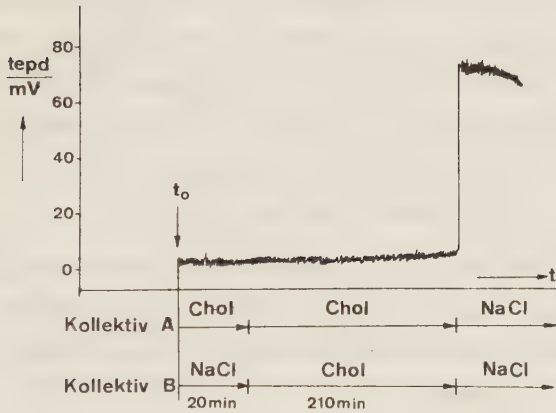


Abb. 3: Versuchstyp 3 "Na-Abhängigkeit" (vgl. Tab.1)
Schema der Wechsel der Instillationslösungen;
Originalregistrierung

t_0 : Meßbeginn

Chol: Cholinchlorid-Lösung, $150 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

NaCl: physiologische Kochsalzlösung, 0,9 %

2.5. Messung der t_{epd}

Die über der Rectumwand bestehende transepitheliale elektrische Spannung wurde in allen Versuchen mit Hilfe von Elektrolyt-Agar-Brücken, deren Anordnung Abb. 4 zeigt, abgegriffen. Der mit der Perfusions-, bzw. Instillationslösung in Kontakt stehende Teil der Brücke war mit Elektrolytagar der gleichen Salz-Konzentration gefüllt, die auch in der angrenzenden Lösung herrschte. Auf diese Weise wurde eine Netto-Diffusion fremder Ionen in die Lösung vermieden.

Bei den Versuchstypen 1 und 5 war die eine Brücke ("differente Elektrode") 4 cm hinter dem Anus über ein T-Stück im Schlauchsystem mit der Perfusionslösung und so mit dem Lumen elektrisch verbunden.

Bei den Versuchstypen 2, 3 und 4 lag die differente Elektrode mit ihrem Ringer-Agar gefüllten Teil direkt im Rectum. Die andere Brücke ("indifferente Elektrode") lag bei den Versuchstypen 1, 2, 3 und 5 im Bauchraum.

Beim Versuchstyp 4 wurde als indifferente Elektrode eine luftblasenfrei mit Ringer-Lösung gefüllte Braunüle (Firma Braun, Melsungen, Größe 0,5) in den Schwanz der Ratte eingestochen und fixiert. Die Braunüle wurde luftblasenfrei mit der Elektrolytbrücke verbunden.

Die Elektrolytbrücken waren über Bechergläser mit 3-molarer KCl-Lösung und Kalomel-Elektroden mit dem elektrischen Meßgerät verbunden (vgl. Abb. 4).

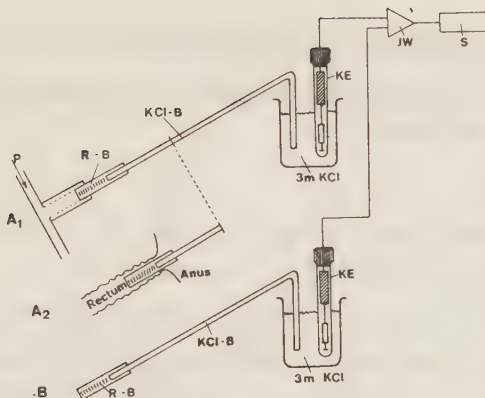


Abb. 4: Schema der tepd-Messung

- KCl-B: KCl-Brücke: mit 3 m KCl-Agar (Gel, bestehend aus 3m KCl-Lösung und $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Agar-Agar) gefülltes Polyäthylentröhrchen; innerer Durchmesser 0,2 cm, Länge 14 cm
- R-B: Ringer-Brücke: mit Ringer-, bzw. 0,9 % NaCl-Agar (Gel, bestehend aus 150 mmol Ringer- bzw. 0,9 % NaCl-Lösung und $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Agar-Agar) gefülltes Polyäthylentröhrchen; innerer Durchmesser 0,3 cm, Länge 4 cm
- KE: Kalomel-Elektrode (Typ O3, Fa. Ingold, Frankfurt/Main)
- P: Perfusion
- IW: Impedanzwandler, im Schreiber integriert (Eingangsimpedanz: $300 \text{ M} \Omega$)
- S: Schreiber
- A₁: luminaler Spannungsabgriff über T-Schlauchstück (Versuchstyp 1 und 5)
- A₂: luminaler Spannungsabgriff direkt durch Einführen in das Rectum
- B: äußerer Spannungsabgriff durch Einführen in den Peritonealraum (Versuchstyp 1,2,3,5) oder durch Anschluß an Braunüle (Versuchstyp 4)

2.6. Bestimmung des transepithelialen Widerstandes

2.6.1. Prinzip der Widerstandsmessung mit Wechselstrom

Nach dem Ohm'schen Gesetz

$$R = \frac{U}{I}$$

läßt sich ein Widerstand R durch Messung der beiden Größen U (Spannung) und I (Stromstärke) bestimmen. Bisher ist der elektrische Widerstand von Epithelien von den meisten Autoren mit Hilfe von gepulstem Gleichstrom gemessen worden. Wegen der dabei prinzipiell nicht vermeidbaren Polarisationsvorgänge im biologischen Material wurde in der vorliegenden Arbeit für diesen Zweck Wechselstrom benutzt.

Im Ohm'schen Gesetz sind in diesem Falle die Größen U und I als Wechselstromgrößen aufzufassen ($\tilde{U}$, $\tilde{I}$). Solange die Frequenz des verwendeten Wechselstromes so niedrig gewählt wird, daß elektrische Kapazitäten und Induktivitäten im Stromkreis vernachlässigt werden können, ist der allein aus dem Quotienten der Amplituden $\tilde{U}/\tilde{I}$ bestimmte Wechselstromwiderstand $\tilde{R}$ gleich dem, der mit Gleichstrom dann gemessen werden würde, wenn keine Polarisation aufträte.

Das Prinzip des in der vorliegenden Arbeit benutzten Meßaufbaus sowie die Geräteverknüpfung verdeutlicht Abb. 5.

Es wurde mit einer Vier-Elektroden-Anordnung gearbeitet, wobei zwischen je einer intra- und extraluminalen Elektrode (E_1 , E_2) ein Wechselstrom floß, während je eine weitere intra- und extraluminale Elektrode (E_3 , E_4) die über dem Epithel abfallende Wechselspannung abgriffen. Zusätzlich wurde die transepitheliale Gleichspannung (U_{epd}) in der beschriebenen Weise (S.18) registriert.

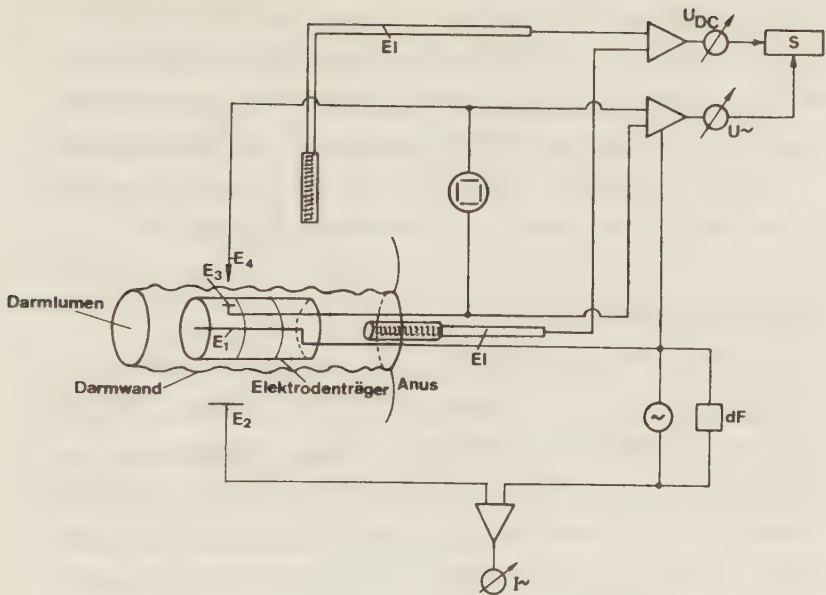


Abb. 5: Schematische Darstellung der Messung des Epithelwiderstandes mit Wechselstrom in vivo (vgl. Text!)

EI: Elektrolytbrücken (vgl. Abb. 4)

E₁₋₄: Platindrahteletroden

▷: Impedanzwandler, Verstärker

⊗: Wechselspannungsquelle regulierbarer Frequenz

⊗: Anzeigeeinstrument

dF: digitales Frequenzanzeigegerät

⊞: Oszilloskop

S: 6-Kanal-Schreiber

Der sinusförmige Wechselstrom wurde durch einen Wechselstromgenerator (Typ PM 5161, Firma Philips Gloeilampenfabrieken, Eindhoven/Niederlande) erzeugt. Die Frequenz des Wechselstromes war auf 130 Hz eingestellt und betrug damit ein nicht ganzzahliges Vielfaches der Netzfrequenz, um Störungen durch Überlagerung von Netzbrumm zu vermeiden. Die Frequenz wurde über ein digitales Meßgerät (Eigenbau Klinikum) laufend kontrolliert.

Die Spannung am Generator wurde so reguliert, daß die über ein digitales Wechselstrommeßgerät (Firma Philips, Typ 2421) gemessene Stromstärke $\tilde{I}$ konstant $100 \mu A_{eff}$ betrug.

Die am Epithel erzeugte Wechselspannung $\tilde{U}$ wurde mit den Elektroden E_3 und E_4 möglichst dicht am Epithel (s. S. 27) abgegriffen und einem frequenzselektiven Meßverstärker zugeführt (Two Phase/Vector Lock-In Amplifier, Modell 129 A, Fa. Princeton Applied Research/Princeton, N.J., USA). Der Verstärker besitzt einen Steuereingang, an den der Wechselstromgenerator direkt angeschlossen wurde. Dadurch wird bei diesem Spezialverstärker erreicht, daß sein Verstärkungsfaktor für alle anderen Frequenzen als die steuernde gleich Null wird. Auf diese Weise wird nur die Meßfrequenz verstärkt und Störungen durch andere Frequenzen sind ausgeschlossen. Der Verstärker wurde im Vector-Mode betrieben, wodurch eine Impedanz in Phase und Betrag angezeigt werden konnte.

Das Ausgangssignal des Lock-in-Verstärkers wurde auf dem 6-Kanal-Schreiber registriert. Die Wechselspannung $\tilde{U}$ wurde auf einem Oszilloskop im Hinblick auf ihre Amplitude und Kurvenform überwacht, um eventuell auftretende Gleichrichtereffekte des Epithels oder andere Störungen zu erkennen. Die durch die Kondensatoreigenschaften des Epithels bewirkte

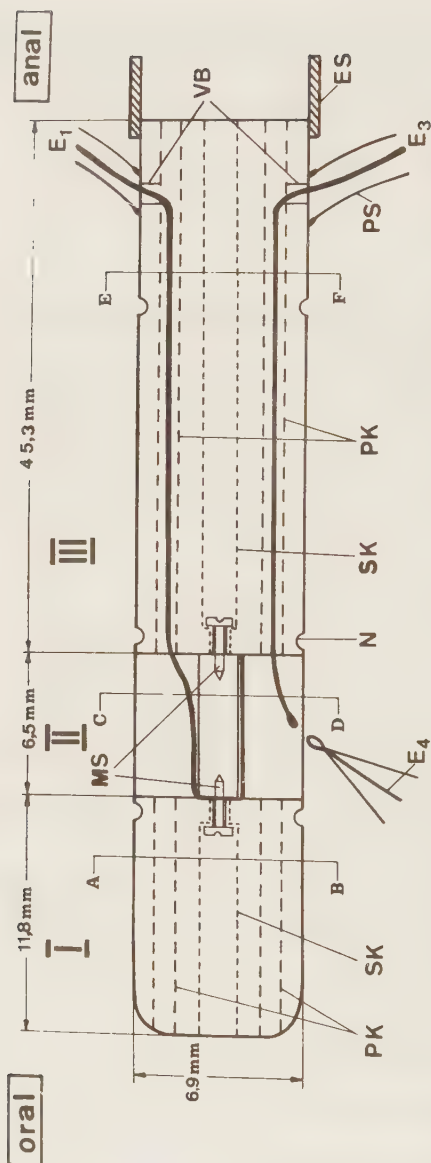
Phasenverschiebung zwischen Referenz- und Meßspannung wurde am Verstärker auf 0° korrigiert. Damit entsprach der angezeigte Betrag der Impedanz dem Ohm'schen Widerstand. Wie auf Seite 40 ausgeführt, betrug die Stromdichte $\tilde{J}$ am Epithel:

$$\tilde{J} = 65 \mu A_{\text{eff}} \cdot \text{cm}^{-2}$$

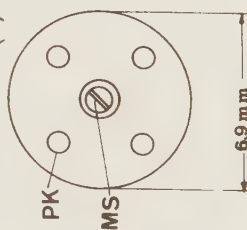
2.6.2. Konstruktions- und Einbaubeschreibung des intraluminalen Elektrodenträgers

Um die intraluminal liegenden Elektroden E_1 und E_3 (Abb. 5) in ein definiertes räumliches Verhältnis zueinander und zu dem umgebenden Epithel zu bringen, mußte ein im Darmlumen liegender Elektrodenträger konstruiert werden. Folgende Forderungen waren dabei zu erfüllen:

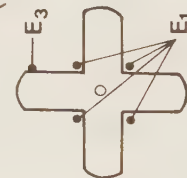
- 1) Der Träger selbst sollte ein Isolator sein.
- 2) Das Epithel sollte von einem annähernd radialsymmetrischen elektrischen Feld durchsetzt werden, damit die Stromdichte an allen Stellen der Darmwand annähernd gleich war; der Abstand zwischen intraluminaler und extraluminaler Wechselstrom-Elektrode mußte möglichst groß sein, da sich der Darm in situ nicht von einer zylinderförmigen Außenelektrode völlig umgeben ließ.
- 3) Der Abstand zwischen innerer und äußerer Wechselspannungs-Elektrode sollte so klein wie möglich gehalten werden, da der Spannungsabfall über der Lösung minimal im Vergleich zum Spannungsabfall über dem Epithel sein sollte.
- 4) Beim Einführen des Elektrodenträgers durfte das Epithel nicht beschädigt oder gedehnt werden.
- 5) Es mußte eine definierte Epithelfläche vom Strom durchsetzt werden.
- 6) Durch den Elektrodenträger durfte die Blutversorgung der Darmwand nicht gestört werden.



Schnitt A-B (I)



Schnitt C-D (II)



Schnitt E-F (III)

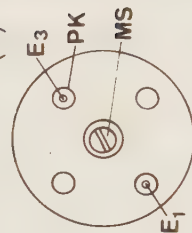


Abb. 6: Elektrodenträger

I, II, III: 3 getrennte Bauteile des Trägers, deren Querschnitte in den Schnitten A-B, C-D und E-F angegeben sind, und die, durch die Schrauben MS zusammengehalten, den fertigen Träger ergeben

PK: Perfusionskanal ($\emptyset$ 0,8 mm)

VB: Verbindungsbohrung ($\emptyset$ 0,4 mm) zur Aufnahme der herausführenden, isolierten Platin-Iridium-Elektroden (E_1 und E_3)

E_1 : Als intraluminale Wechselstromelektrode dienender Platin-Iridium-Draht ($\emptyset$ 0,1 mm), überzogen mit Polyäthylenschlauch als Isolierung, nur im Teil II des Elektrodenträgers frei verlaufend

E_3 : Als intraluminale Wechselspannungselektrode dienender Platin-Iridium-Draht, überzogen mit Polyäthylenschlauch, nur an der Spitze freiliegender Platin-Iridium-Kopf

E_4 : Extraluminale Wechselspannungselektrode, nur an der Spitze freiliegender Platin-Iridium-Kopf

PS: Polyäthylenschlauch mit innen geführtem, isoliertem Platin-Iridium-Draht

ES: Efferenter Schlauchteil des Perfusionssystems (vgl. Abb. 2)

N: Umlaufende Nut zur Aufnahme der Ligatur

SK: Zentral liegender Schraubenkanal

Abb. 6 zeigt den Träger. Als Material wurde Plexiglas verwendet. Die Teile I und III wurden durch axial eingesetzte Metallschrauben mit dem Teil II verbunden. Die Schrauben waren zur Vermeidung von Korrosionseffekten vernickelt. Am distalen Ende des Elektrodenträgers lagen zwei gegenüberliegende Bohrungen ($\varnothing$ 0,4 mm), durch die Verbindungen zwischen der Außenfläche des Trägers und jeweils einem Perfusionskanal hergestellt wurden. Durch diese Öffnungen wurden zwei als Strom- und Spannungselektroden dienende Platin-Iridium-Drähte zum Meßteil des Elektrodenträgers geleitet (Drahtdurchmesser 0,1 mm). Dabei wurden die an der Außenfläche des Trägers heraustretenden Platin-Iridium-Drähte durch 10 cm lange, durch 2-Komponenten-Klebstoff (Fa. Uhu, Lingner u. Fischer, Bühl/Baden, Endfest 300) flüssigkeitsdicht befestigte Polyäthylenschläuche geleitet. Zusätzlich waren die Platin-Drähte in ihrem ganzen Verlauf von einem dünnen, gezogenen Polyäthylentröhrchen ($\varnothing$ 0,2 - 0,3 mm) umschlossen, so daß nur im Meßteil (Teil II) des Elektrodenträgers und an den außen liegenden Anschlußstellen der Elektroden freie Drahtenden vorhanden waren. Der Einbau des Trägers vollzog sich folgendermaßen: Nach Eröffnung des Bauchraumes in beschriebener Weise und anschließender Spülung des Rectums wurde der Elektrodenträger vom Anus her in das Rectum eingeführt, an 3 Stellen eingebunden und mit dem perfundierenden Schlauchsystem verbunden. Die Perfusionsrate wurde an der stromkonstant arbeitenden Rollenocclusionspumpe (Apparatebau Stinzing, Würzburg; vergl. Abb. 2) auf 0,5 ml/min eingestellt. Eine Kalibrierung der Pumpe war vorher durchgeführt worden.

In Vorversuchen war beobachtet worden, daß das Einschieben des Elektrodenträgers sehr vorsichtig ausgeführt werden mußte, wenn Verletzungen des Epithels vermieden werden sollten. So war bei der Benutzung eines Trägers mit einem scharfkantigen Teil I bei Meßbeginn eine Wechselspannung von $< 1 \text{ m V}_{\text{eff}}$ bei $65 \mu\text{A}_{\text{eff}} \cdot \text{cm}^{-2}$ Stromdichte gemessen worden, entsprechend einem Flächenwiderstand von weniger als $15 \Omega \cdot \text{cm}^2$, ein Wert, der sich auch bei absichtlicher Perforation einstellte und somit für eine Beschädigung des Epithels spricht. Aus diesem Grund wurde für die endgültigen Versuche der proximale Teil des Trägers konisch abgeschliffen und außerdem nach jedem Versuch die Darmwand des getöteten Versuchstieres perforiert und als Kontrolle die Potentialänderung bei gleichbleibend einregulierter Stromstärke beobachtet.

Die extraluminale Wechselspannungselektrode (E_4 , Abb.6), welche ebenfalls bis auf die Meßspitze mit einem Polyäthylenschlauch isoliert war, wurde mit Hilfe eines Mikromanipulators unter einem Operationsmikroskop an die Darmwand gebracht. Durch eine am freiliegenden Teil des Elektrodenträgers befindliche Markierung konnte die extraluminale Elektrode E_4 genau gegenüber der intraluminalen Elektrode E_3 eingestellt werden. Mit Hilfe eines Ocularmikrometers im Mikroskop war es möglich, bei Versuchsende nach Eröffnung des Darms Lage und Abstand der beiden Wechselspannungselektroden auszumessen.¹⁾

2.7. Kontrollgrößen

2.7.1. Temperatur

Die Temperatur wurde bei allen narkotisierten Tieren durch ein Sekundenthermometer (Firma Atmos u. Fritzsching, Lenzkirch)

1) Abstand E_3/E_4 : ca. 1mm (vgl. S.53)

über eine Sonde in der Bauchhöhle überwacht. Mit Hilfe des beheizbaren Operationstisches und durch einen in 25 cm Höhe über der Ratte angebrachten Strahler (Glühlampe 75 W) wurde die Temperatur des Versuchstieres konstant auf 37⁰ C gehalten.

2.7.2. Blutdruck, Herz- und Atemfrequenz

Bei den Versuchstypen 1 und 5 (vgl. Tabelle 1) wurde der arterielle Mitteldruck über den Carotiskatheter überwacht. Dazu war dem Schreibereingang normalerweise ein RC-Tiefpass ($\tau = 3,8 \text{ s}$) vorgeschaltet. Ohne den Tiefpass waren Atem- und Herzfrequenz als Druckschwankungen sichtbar und konnten durch Wahl eines schnellen Papiervorschubs registriert werden.

2.7.3. Gewicht

Die Tiere wurden vor und nach den Versuchen zur Kontrolle einer ausgewogenen Flüssigkeitsbilanz gewogen. Bei keinem Versuch wurden Gewichts differenzen von mehr als 1,5 g registriert.

3. Ergebnisse

3.1. Na/K-Quotient im Ureterharn in Beziehung zum transepithelialen Potentialanstieg (Abb. 7 und Tabelle 2)

Verlaufsuntersuchungen des Na/K-Quotienten im Urin setzen voraus, daß der Harnfluß $\dot{V}_u$ konstant bleibt. Die Ausscheidungsrate der linken Niere wurde mit Hilfe der gesammelten Probenmenge berechnet:

$$\dot{V}_u = \frac{\text{Urin volumen der einzelnen Sammelperiode}}{\text{Auffangzeit}} \left[\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \right]$$

Die Anzahl der Versuche, in denen $[\text{Na}^+]_u$ und $[\text{K}^+]_u$ bestimmt

wurden, betrug: $n = 6$, die Zahl der Proben/Versuch abhängig von der Versuchsdauer: 7 - 17.

Der in den linken Ureter eingeführte Polyäthylenschlauch besaß eine Länge von 8 cm bei einem Innendurchmesser von $\approx 0,7$ mm. Damit betrug das maximale Volumen des so geschaffenen künstlichen Harnableitungsweges etwa $60 \mu\text{l}$. Bei einer gemessenen Ausscheidungsrate der Einzelniere von $3 \cdot 10^{-6} \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ (S.33) läßt sich abschätzen, daß erst nach etwa 20 min Verzögerung Veränderungen der Elektrolytkonzentration des Nierenbeckenharns im Auffangtöpfchen auftreten konnten. Dieses im Verhältnis zur Versuchsdauer kleine Intervall wurde bei der zeitlichen Zuordnung von tepd und Na/K-Werten vernachlässigt.

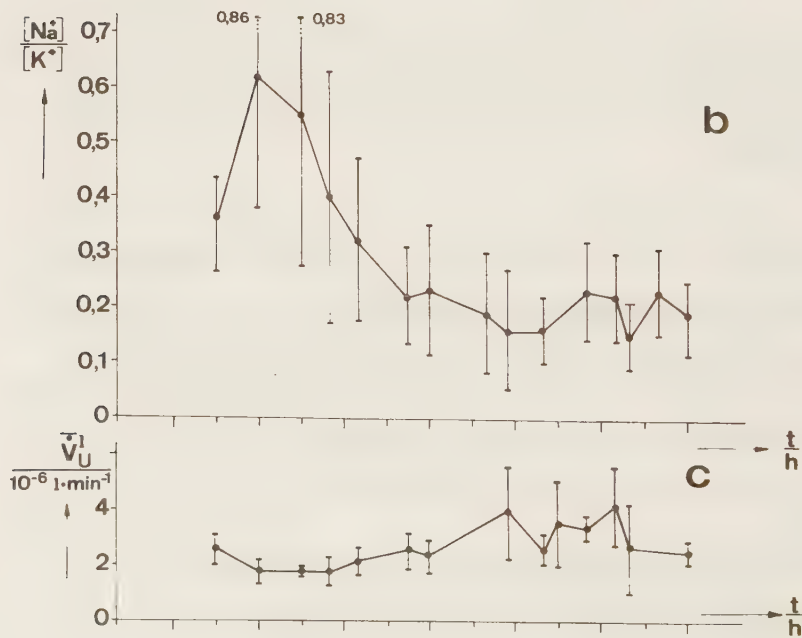
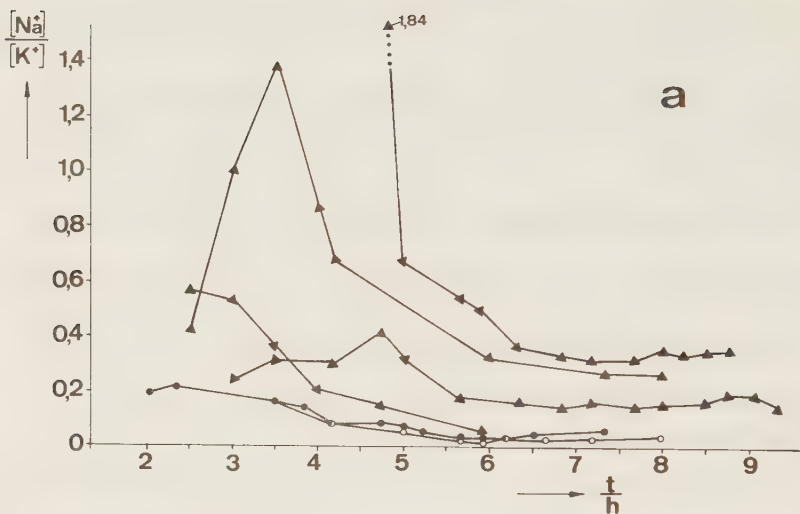
Abb. 7c zeigt, daß die Konstanz des Harnflusses im Mittel ausreichend erfüllt war. Ein Absinken der $\dot{V}_u$ unter $10^{-6} \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ als Zeichen einer beginnenden Niereninsuffizienz wurde nicht beobachtet.

Der Verlauf des Na/K-Quotienten der Einzelwerte ist in Abb. 7a aufgetragen. Klar erkennbar ist der zeitliche Abfall des Quotienten trotz konstanten Urinvolumens.

Um die Unterschiede trotz der Streuungen zahlenmäßig zu erfassen, wurden zwei Zeitperioden getrennt gemittelt, indem alle Proben zu einem Kollektiv zusammengefaßt wurden, die im gleichen Zeitintervall nach Narkosebeginn abgenommen worden waren:

Zeitintervall I : 120 - 310 nach Narkosebeginn

Zeitintervall II: 360 - 490 nach Narkosebeginn



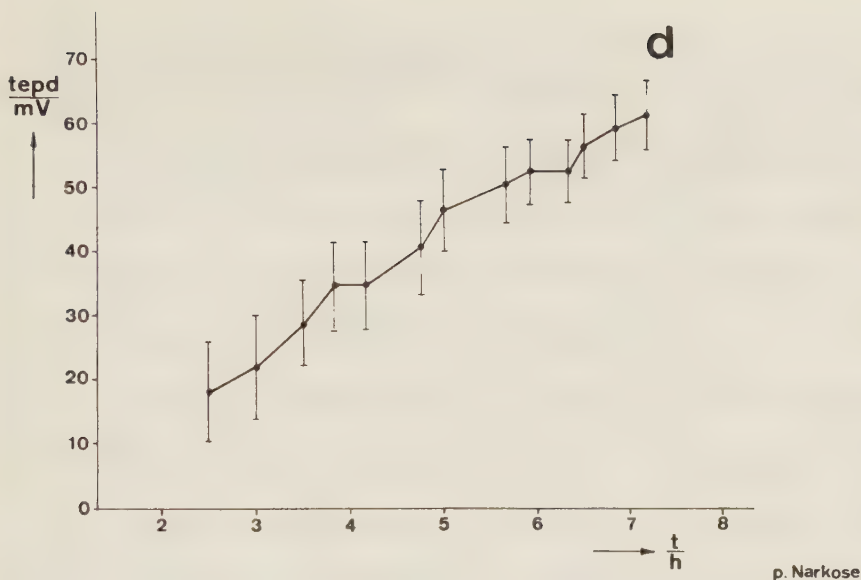


Abb. 7a - 7d: Zeitliche Verläufe der gemessenen Parameter des Versuchstyps 1 ("Na/K-Quotient")

- a: Verlauf des Na/K-Quotienten in den Einzelversuchen; zur deutlicheren Unterscheidung sind die beiden unteren Kurven durch offene (O) und geschlossene (●) Punkte dargestellt
- b: Verlauf des Na/K-Quotienten als Mittelwert $\pm$ SE
- c: Mittlerer Urinfluß im linken Ureter $\pm$ SE
- d: Mittlere tepd $\pm$ SE

Der dauernd registrierte arterielle Blutdruck und die tepd wurden ebenfalls in den Vergleich der Kollektive mit einbezogen. Die Zahlenwerte der Ergebnisse dieser Versuche zeigt Tabelle 2. Die Signifikanzen wurden mit Hilfe des t-Testes für gepaarte Werte ermittelt. Dabei zeigte sich, daß sich sowohl die Na/K-Quotienten und Elektrolytkonzentrationen im Urin als auch die tepd in beiden Zeitintervallen signifikant unterschieden. Die Harnausscheidungsrate änderte sich während der Versuchsdauer nicht signifikant; die Konstellation der Konzentrationen und Konzentrationsverhältnisse schließt eine Änderung der ADH-Wirkung im Versuchszeitraum aus. Daher können Elektrolytveränderungen nicht mit einer Abnahme der glomerulären Filtration in Zusammenhang gebracht werden. Der arterielle Blutdruck zeigte keine signifikante Veränderung. Zwischen der absoluten Höhe des tepd-Anstiegs und dem Na/K-Quotient bestand keine Korrelation. Eine hohe Potentialdifferenz war also nicht mit einem niedrigen Na/K-Quotient korreliert; im Gegenteil zeigte sich wiederholt, daß auch hohe tepd's mit vergleichbar geringen Na/K-Änderungen verbunden sein konnten.

3.2. Einfluß des Narkosestreß auf den zeitlichen Verlauf der tepd

Bei dieser Versuchsgruppe war immer ein Anstieg der tepd sichtbar. Die dabei gefundenen Werte zeigt Tabelle 3. Als Vergleich wurde der Potentialanstieg der Versuchsgruppe 5 ("Leitfähigkeit") herangezogen. Die Signifikanz wurde mit Hilfe des t-Testes für ungepaarte Werte untersucht. Dabei ergaben sich hochsignifikante Unterschiede ($P < 0,001$) nicht nur für die tepd 2, 3 und 5 h nach Narkose, sondern auch für die maximal erreichten Potentialdifferenzen.

Tabelle 2: Na/K-Quotient im Urin von Normalratten

Einfluß der Narkosedauer (n = 6)

Parameter, Einheiten-streuung	Zeitinter-vall I 120-310 min p. Narkose	Zeitinter-vall II 340-490 min p. Narkose	Vergleich der beiden Zeitinter-valle im gepaarten t-Test
$\overline{[Na^+]_u}$ [mmol.l ⁻¹] + SD - SE	50,5 17,0 7,0	30,5 16,1 6,6	P < 0,001
$\overline{[K^+]_u}$ [mmol.l ⁻¹] + SD - SE	189,7 153,8 62,0	259,5 217,4 88	P < 0,001
$\frac{[Na^+]}{[K^+]}$ [1] + SD - SE	0,55 0,676 0,276	0,165 0,123 0,065	P < 0,05
$\overline{tepd}$ [mV] + SD - SE	nach 210 min 29,2 14,5 6,5	nach 420 min 62 11,9 5,4	P < 0,005
$\overline{Pa}$ [mm Hg]	125 - 130	120 - 135	
$\overline{V_u}$ [ml.min ⁻¹] + SD - SE	2,21 · 10 ⁻⁶ 0,6 · 10 ⁻⁶ 0,3 · 10 ⁻⁶	3,5 · 10 ⁻⁶ 1,9 · 10 ⁻⁶ 0,8 · 10 ⁻⁶	P < 0,9

P: Irrtumswahrscheinlichkeit für zweiseitige Testung (gelegentlich auch als "2P" bezeichnet).

$[]_u$: mittlere Konzentration im Urin

$\overline{P_a}$: mittlerer arterieller Blutdruck

$\overline{tepd}$: mittlere transepitheliale Potentialdifferenz

$\frac{[Na^+]}{[K^+]}$ [1] mittlerer Na/K-Quotient im Ureterharn

$\overline{V_u}$: mittlerer Urinfluß im linken Ureter

Tabelle 3: Vergleich des tepd-Verhaltens von streßarm (Versuchstyp 2) und normal (Versuchstyp 5) narkotisierten Tieren

	Vers. Nr.	tepd 120 min p. Mark. (mV)	tepd 180 min p. Mark. (mV)	tepd 300 min p. Mark. (mV)	tepd_max (mV)
Kollektiv des Versuchstyps 2	164	+ 7	+ 2	8	40
	165	+ 15	23	49	64
	166	5	5	12	20
	167	8	9	9	9
	170	2	2	10	18
	175	2	5	15	22
	178	6	4	40	58
	180	0	3	15	20
	181	+ 2	0	7	22
	n	9	9	9	9
	$\bar{x}$	3,22	5,44	18,33	30,3
	SD	6,3	7,30	15,26	19,2
	SE	2,1	2,43	5,08	6,4
Vergleichs-Kollektiv (Versuchstyp 5) Werte aus Tab. 5	n	10	12	12	12
	$\bar{x}$	23,3	28	46,16	61
	SD	11,27	8,41	15,7	17,07
	SE	3,57	2,43	4,54	4,92
Vergleich der beiden Kollektive im ungepaarten t-Test	P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Alle tepd sind Lumen negativ gegenüber Interstitium außer denen, die mit + bezeichnet sind. (Lumen positiv gegenüber Interstitium)
 tepd_max: maximal erreichte tepd

3.3. Einfluß von NaCl- und Cholinchlorid-Lösung auf die tepd

In allen Versuchen dieser Gruppen zeigte sich der in Abb.3 an einem typischen Beispiel demonstrierte Verlauf der tepd: Während Spülungen mit Na-freier Cholinchlorid-Lösung blieb die tepd konstant auf dem niedrigen Anfangsniveau oder bewegte sich noch etwas in dem Bereich positiver tepd's; unmittelbar beim Wechsel der Instillationslösung sprang die tepd jedoch auf Werte, wie sie bei gleichartigen Versuchen, jedoch mit NaCl-Instillation, nach dieser Zeit durch kontinuierlichen Anstieg erreicht wurden. Dieses Verhalten wurde auch nicht verändert durch eine anfängliche Spülung mit NaCl-Lösung.

Es wurden die mit NaCl- und Cholinchlorid-Lösung behandelten Tiere in Bezug auf die Höhe des Potentialsprungs miteinander verglichen.

Die Versuchsergebnisse (Tab. 4) zeigen keinen Unterschied zwischen nur Cholinchlorid- und auch NaCl-vorbehandelten Tieren. Bei beiden Versuchsgruppen ist bei der 4. Spülung mit 150 mmolarer NaCl-Lösung ein sofort einsetzender, in wenigen Sekunden abgeschlossener Potentialsprung zu beobachten, dessen Höhe bei beiden Kollektiven nicht signifikant variierte. Die vergleichende Auswertung solcher Verläufe, bei denen der Potentialsprung groß ($>28\text{mV}$) war, und solcher, bei denen er klein ($<5\text{ mV}$) war, ergab keine Unterschiede in den protokollierten vitalen oder experimentellen Parametern zum selben Zeitpunkt nach Narkose.

Tabelle 4 : Potentialsprung der tepd des Rectums bei plötzlicher Exposition gegen 0,9%ige NaCl-Lösung

a) nach Na-freier Vorperiode

b) nach Na-freier Vorperiode, jedoch anfänglicher Spülung mit NaCl-Lösung (vergleiche Text)

Kollektiv	Versuch Nr.	tepd (mV)		Potential- änderung Δ tepd (mV)
		vor 4. Spülung mit NaCl 0,9%	nach 4. Spülung mit NaCl 0,9%	
a) Ohne NaCl-Lösung vorgespül- te Tiere (vergl. Abb. 3)	193	0	10	10
	199	+ 6	8	14
	201	1	11	10
	203	16	67	51
	205	+ 5	16	21
	207	9	12	3
	209	2	60	58
	211	+ 9	50	59
	n = 8 $\bar{x}$ SD SE	1 8,2 2,9	29 25 8,8	28 23 8,3
b) mit NaCl- Lösung vorgespül- te Tiere (Vergl. Abb. 3)	194	20	45	25
	198	+ 14	10	24
	200	10	39	29
	202	+ 9	50	59
	204	+ 4	14	18
	206	0	14	14
	208	3	21	18
	210	6	22	17
	212	+ 7	55	62
	n = 9 $\bar{x}$ SD SE	0,55 10,5 3,5	30 17,2 5,75	29,55 18,1 6,05
Vergleiche der beiden Kollektive im unge- paarten t-Test	P	$< 0,9$	$< 0,9$	$< 0,8$

Alle Potentialdifferenzen sind Lumen negativ gegenüber Interstitium außer denen, die mit + bezeichnet sind.

3.4. Verhalten der tepd bei der nichtnarkotisierten Ratte im Langzeitversuch (Versuchstyp 4)

Bei dieser Versuchsgruppe wurden mit zwei Ratten je 6 Versuche durchgeführt, die jeweils für beide Ratten gleich lange dauerten (insgesamt 12 Versuche). Die Versuchsdauer der Einzelversuche war unterschiedlich und betrug zwischen 5 und 32 Stunden (die beiden längsten Versuche dauerten 29 und 32 Stunden). Dabei ergaben sich folgende Beobachtungen:

- 1) Die Tiere verhielten sich von Versuch zu Versuch ruhiger. An den ersten Versuchstagen waren sie nur schwer in die für sie ungewohnten engen Stoffwechselkäfige zu bringen. Später waren die Ratten so daran gewöhnt, daß sie von selbst in die Stoffwechselkäfige hineinliefen, wenn diese in ihre normalen Käfige hineingehalten wurden.
- 2) Bei den Versuchen, die länger als 12 Stunden dauerten, zeigten die Ratten eine gewisse Schlaf-Wach-Periodik. Dabei äußerte sich die Ruhepause dadurch, daß sich die Tiere mit geschlossenen Augen still in ihren Stoffwechselkäfigen verhielten. Während ihrer Wachphasen fraßen und tranken die Tiere und bewegten sich so weit wie möglich innerhalb ihrer Käfige. Dieses Verhalten korrelierte mit der Tageszeit in der Weise, daß die Wachphasen nachts und die Schlafphasen tagsüber lagen und entsprach damit dem für Ratten physiologischen Verhalten.
- 3) Nach Versuchsende wurden die Tiere wieder in ihre normalen Käfige zurückgesetzt. Sofort danach liefen sie darin umher, berochen sich gegenseitig und zeigten auch sonst kein ungewöhnliches Verhalten.
- 4) Die tepd verhielt sich nicht einheitlich. Sowohl intra- als auch interindividuell zeigten sich Unterschiede in der Weise, daß die Spannung teilweise sofort nach Einführung der Meßsonde, teilweise mit Verzögerung und manchmal überhaupt nicht anstieg (Kurventyp A, A', B, B'; Abb.8).

Wichtig ist die Beobachtung, daß - anders als in den bisherigen kürzer dauernden Experimenten in Narkose - die tepd nach Phasen des Anstiegs auch spontan wieder abfallen kann. Die beiden Ratten, nach ihrer Markierung "Grün" und "Braun" genannt, unterschieden sich in den meisten Versuchen in der Weise voneinander, daß "Braun" bei den prinzipiell parallel ausgeführten Versuchen, immer einen geringeren Absolutanstieg der tepd zeigte als "Grün". Bei einem Versuch ergab sich jedoch, daß auch "Braun" prinzipiell die Fähigkeit hatte, die tepd auf höhere Werte ansteigen zu lassen.

- 5) Es zeigte sich, daß bei beiden Tieren regelmäßige transepitheliale Spannungsschwankungen auftraten, deren Frequenz bei 4 - 8/Stunde lag (vgl. Abb. 8). Die Höhe dieser von uns mit der Darmperistaltik in Verbindung gebrachten Schwankungen variierte mit der Höhe der momentanen tepd. Bei hoher tepd (>30 mV) betrugen die regelmässigen Schwankungen 5 - 8 mV, bei einer tepd unter 30 mV hatten sie eine Höhe von 1 - 3 mV. Die Schwankungen waren besonders gut in den Schlafphasen zu erkennen und schienen dabei zuzunehmen. Sowie die Tiere unruhig wurden, traten die regelmäßigen Oszillationen nicht mehr auf.¹⁾

3.5. Verhalten des spezifischen Widerstandes der Rectumwand während des Anstiegs der tepd (Versuchstyp 5)

Zur Ermittlung des Verhaltens des transepithelialen Widerstandes wurden 12 Versuche durchgeführt, bei denen in beschriebener Weise folgende Parameter der Versuchstiere registriert wurden:

tepd

Amplitude der Wechselspannung bei $J = 65 \mu A_{\text{eff}} \cdot \text{cm}^{-2}$
und $f = 130$ Hz

mittlerer arterieller Blutdruck (P_a)

Atemfrequenz (f_A)

Herzfrequenz (f_H)

1) nicht auflösbar in Abb.8, nur in Abb. 8a

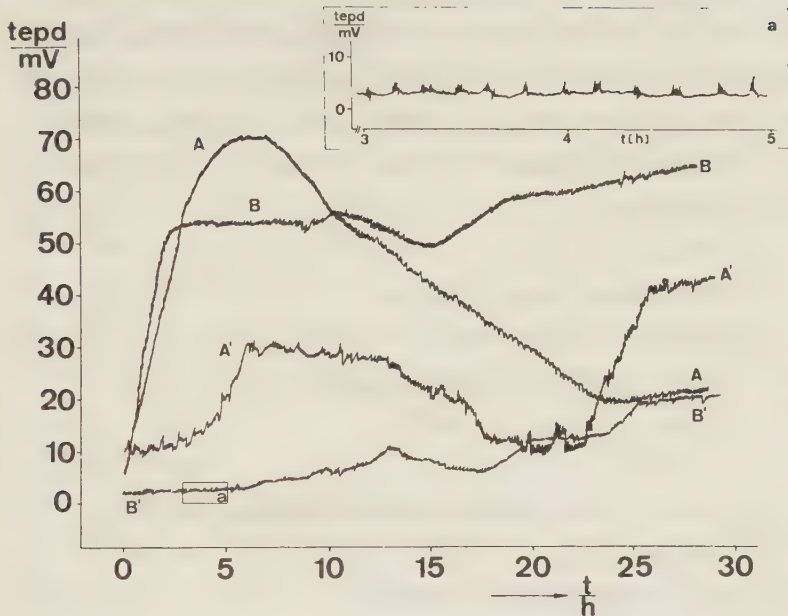


Abb. 8: Verlauf der tepd in Langzeitversuchen am wachen Tier
Dargestellt sind 4 der insgesamt 12 Registrierungen.
Am häufigsten wurden Verläufe des Typs A' beobachtet.

- A, A' : tepd-Verläufe am selben Tier in verschiedenen Versuchen (Ratte "Grün")
B, B' : entsprechend (Ratte "Braun")
Die Versuche A und B sowie A' und B' wurden jeweils parallel durchgeführt (vgl. Text!)
a zeitlich gestreckter Ausschnitt aus dem tepd-Verlauf zur Darstellung der elektrischen "Peristaltik"

Der transepitheliale Widerstand wurde folgendermaßen ermittelt: Die Fläche A des über dem Meßabschnitt des Elektroden-trägers (Teil II in Abb. 6) liegenden Darmabschnittes kann unter Vernachlässigung einer eventuellen Abschattung durch die Kreuzarme des Trägers als Mantelfläche eines Zylinders angesehen werden

$$A = \pi \cdot d \cdot l$$

d = Durchmesser des Zylinders

l = Länge des Zylinders

Mit den Zahlen aus Abb. 6 folgt daraus:

$$A = 3,14 \cdot 0,69 \cdot 0,65 \text{ cm}^2$$

$$A = 1,54 \text{ cm}^2$$

Der das Epithel durchsetzende Wechselstrom betrug:

$$\tilde{I} = 100 \mu A_{\text{eff}}$$

Damit war die Stromdichte im Epithel

$$\tilde{J} = \frac{\tilde{I}}{A} = \frac{100 \mu A_{\text{eff}}}{1,54 \text{ cm}^2} = 64,9 \approx 65 \mu A_{\text{eff}} \cdot \text{cm}^{-2}$$

Der spezifische Epithelwiderstand R_{spez} ergibt sich aus:

$$R_{\text{spez}} [\Omega \cdot \text{cm}^2] = \tilde{U} [V_{\text{eff}}] \cdot (\tilde{J} [A_{\text{eff}} \cdot \text{cm}^{-2}])^{-1}$$

Da es bei dieser Versuchsgruppe darauf ankam, eventuelle Änderungen des Epithelwiderstandes mit der Zeit (d.h.eigentlich mit der zeitabhängigen tepd) zu erfassen, wurde der Versuchsablauf für die Auswertung so unterteilt, wie in Abb. 9 gezeigt.

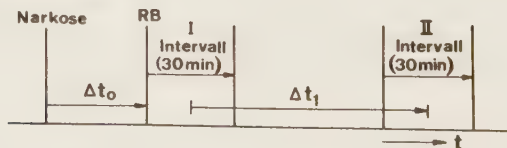


Abb. 9: Unterteilung des Versuchsablaufes der Wechselstromversuche

RB: Registrierbeginn aller Parameter

Die auf diese Weise gebildeten Datenkollektive aus den Intervallen I und II wurden im t-Test für gepaarte Werte miteinander verglichen (Tab. 5 und 6). Dabei zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des spezifischen Flächenwiderstandes in den beiden Beobachtungsintervallen, während die tepd signifikant anstieg ($P < 0,001$; Tab. 5). Die vitalen Parameter Blutdruck, Herz- und Atemfrequenz ließen keine signifikanten Veränderungen erkennen (Tab. 6) und lagen im für Ratten angegebenen Normbereich (38 b).

4. Diskussion

4.1. Bauchhöhlen- und Darmpräparation

Im Verlauf der Eröffnung der Bauchhöhle und der Präparation des Darms ist eine Beeinflussung der Meßwerte denkbar durch:

1. Blutverluste während der Präparation

2. Mechanische Irritation des Darms

3. Parasympathicus-Erregung durch Zug am Mesenterium

Durch das unter 2.3. beschriebene Vorgehen konnte gewährleistet werden, daß nur ein minimaler Blutverlust auftrat, denn durch den medialen Längsschnitt der Bauchwand und durch die beschriebene Schnittführung am Rectum wurden keine größeren Gefäße eröffnet. Vorkehrungen gegen Einflüsse nach 2. und 3. bestanden darin, daß alle Operationen am Darm unter größter Schonung und ohne Vorverlagerung des Gekröses ausgeführt wurden. Daß diese Technik erfolgreich war, ist daraus zu schließen, daß die Potentialdifferenz bei den Versuchen, welche mit Öffnen der Peritonealhöhle und des Darms einhergingen, sich nicht von der bei Versuchen ohne Eröffnung unterschied (vgl. Abb. 1 und 8).

Tabelle 5: Ergebnisse der Widerstandsmessung mit Wechselstrom und Entwicklung der tepd

V.Nr.	$\tilde{U}$ [mV]		tepd [mV]		R_{spez} [$\Omega \cdot cm^2$]		tepd [mV]		tep _d max [mV]
	Int.I	Int.II	Int.I	Int.II	Int.I	Int.II	120 min p.Nark.	180 min p.Nark.	
260	6	7	36	62	92,4	107,8	32	37	62
261	2	3,5	25	46	30,8	53,9	35	35	43
262	3,6	4	26	47	55,4	61,6	36	27	46
263	8	7,4	12	39	123,2	113,96	13	12	43
264	8	7	16	85	123,2	107,8	15	36	95
265	8,5	8	20	75	130,9	123,2	-	20	82
266	6,2	5,7	23	70	95,48	87,78	-	24	73
267	3,6	4,0	20	64	55,4	61,6	20	25	67
268	2,6	3,4	9	55	40,4	52,36	3	30	53
269	6,8	7,4	26	65	104,72	113,96	26	29	68
270	6	6,2	22	58	92,4	95,48	18	20	60
271	8,2	8,2	35	39	126,28	126,28	35	41	40
Vergleich der Para- meter im gepaarten t-Test	12	12	12	12	12	12	10	12	12
	5,79	5,98	22,5	58,7	89,0	92,1	23,3	28,0	61,0
	2,3	1,8	8	14	35,4	27,8	11,2	8,4	17,0
	0,66	0,67	2	4	10,2	8,0	3,5	2,4	4,9
$P < 0,7$		$P < 0,001$		$P < 0,2$					

Zur Definition der Intervalle vgl. Abb. 9

$\tilde{U}$: Wechselspannung R_{spez} : ermittelter spezifischer Epithelwiderstand
Int.I, Int.II: Intervall I bzw. II tep_d max: maximal erreichte tepd

Beachte die unterschiedlichen Signifikanzen für $\tilde{U}$ und R_{spez}

Tabelle 6: Vergleich vitaler Parameter bei den Versuchen mit Wechselstromwirkung

V.Nr.	G [g]	t ₀ [min]	t ₁ [min]	P _a [mm Hg]		f _H [min ⁻¹]		f _A [min ⁻¹]	
				Int.I	Int.II	Int.I	Int.II	Int.I	Int.II
260	219	140	290	105	100	408	386	80	./.
261	220	120	450	110	105	340	386	64	72
262	226	130	330	115	105	432	400	84	80
263	259	135	315	110	95	392	352	72	60
264	265	115	380	105	./.	332	./.	60	./.
265	239	120	220	115	110	408	424	100	92
266	219	135	215	90	95	408	368	100	104
267	223	130	340	95	85	432	332	92	92
268	225	120	210	110	100	456	440	84	72
269	200	125	220	85	85	412	428	72	52
270	200	135	260	90	105	372	380	52	68
271	214	85	300	90	95	416	428	76	72
n	12	12	12	12	11	12	11	12	10
$\bar{x}$	226,5	124,0	294,0	101,4	98,1	407,0	393,0	78,0	76,4
SD	20,2	14,0	74,0	11,4	8,1	31,1	34,5	15,1	15,8
SE	5,8	14,2	21,5	3,4	2,4	9,3	10,4	4,3	5,0
P					< 0,2		< 0,2		< 0,3

Die Intervalle sind in Abb. 9 definiert

P_a: arterieller Blutdruck

f_H: Herzfrequenz

f_A: Atemfrequenz

t₀, t₁: vergleiche Abb. 9

G: Gewicht der Ratte

tepd_{max}: maximal erreichte tepd

4.2. Natrium/Kalium-Quotient (Versuchstyp 1)

Die Abnahme des Na^+/K^+ -Quotienten im Urin und der Anstieg der tepd am Rectum (vergl. Abb. 7) verlaufen qualitativ so, daß beide Phänomene durch die Annahme einer mit der Zeit zunehmenden Stimulation der aktiven Na^+ -Resorption in Niere und Darm erklärbar sind, wie sie zum Beispiel im Prinzip durch eine verstärkte Aldosteronsekretion der Nebennierenrinde bewirkt sein könnte. Denn es ist bekannt, daß Aldosteron am Nierentubulus (37,41,48,57) und am Darm (14,21,25) die Na^+ -Resorption und die K^+ -Sekretion steigert.

Für eine gemeinsame Ursache spricht auch die Latenzzeit zwischen Narkose und beobachteten Veränderungen. So wurde als Zeitintervall zwischen Narkose und tepd-Anstiegsbeginn am Rectum von Fromm (36) 138 ± 8 min und von Edmonds (23) 120 - 180 min gefunden. Der letztgenannte Autor beobachtete bei lokaler Aldosteroninjektion in ein Mesenterialgefäß einen tepd-Anstiegsbeginn nach 60 - 90 min. Derselbe Zeitraum wurde zwischen Aldosteroninjektion und Na^+/K^+ -Effekt am Nierentubulus gefunden (33, 48).

Nach einmaliger Aldosteroninjektion hatten Fimognari et al. (33) sowie Morris und Davis (49) beobachtet, daß Na^+ - und K^+ -Veränderungen im Urin von Ratten nach 5 - 6 Stunden verschwunden waren. In den vorliegenden Versuchen waren jedoch sowohl die Änderungen des Na^+/K^+ -Quotienten als auch der tepd noch nach 8 Stunden vorhanden. Da die Halbwertszeit von Aldosteron im Plasma nur ungefähr 20 min (1) und die biologische Halbwertszeit von Aldosteron an der Rectummucosa ca. 4 Stunden beträgt (36), wäre danach zu fordern, daß entweder eine anhaltende oder wiederholte Mehrsekretion

von Aldosteron stattfand. Eine Klärung könnten Aldosteronbestimmungen im Plasma in Korrelation zum tepd-Verlauf am Rectum bringen.

4.3. Einfluß des Narkosestreß (Versuchstyp 2)

Der in Tab. 3 dokumentierte Unterschied des tepd-Anstieges bei streßarmen gegenüber normal narkotisierten Tieren kann zwar durch das unterschiedliche Vorgehen bei der Narkose erklärt werden. Jedoch ist ebenfalls eine Beeinflussung der tepd durch den Umfang des operativen Vorgehens denkbar, da in der Versuchsgruppe 5 umfangreichere Manipulationen als bei Gruppe 2 notwendig waren. Insofern sind also die "Kontrolltiere" nur bedingt vergleichbar. Auch eine Kombination von Narkose- und Operationsfaktoren ist denkbar. Allerdings lag der Beginn der operativen Implantation des Elektroden-trägers zwischen der 60. und 80. min nach Narkose, und die tepd zeigte bereits 120 min nach der Narkose einen signifikanten Anstieg. Da nach Resultaten von Edmonds (23), Fromm (36) und eigenen Ergebnissen die Latenzzeit zwischen Narkose und Beginn des tepd-Anstieges bei ca. 140 min liegt, hätte die tepd erst zu einem späteren Zeitpunkt ansteigen dürfen, falls die Präparation des Darmes der entscheidende Faktor gewesen wäre. Daher muß man schließen, daß der überwiegende Einfluß doch von der Narkoseeinleitung ausgegangen war. Unveröffentlichte Befunde von Fromm (36) zeigen, daß das Weglassen des Carotis-Katheters keine Änderungen des tepd-Verlaufes verursachen. Auch geht eine Umkehr der operativen Reihenfolge Carotis-Katheter - Anlegen der Darmperfusion ebenfalls nicht mit einer Änderung des tepd-Verlaufes einher.

Da im Unterschied zu den Befunden an der wachen Ratte jedoch in Narkose die tepd regelmäßig - mit der Latenz - anstieg, muß demnach Folgendes geschlossen werden:

- a) die tepd scheint einen empfindlichen Parameter für einen Streß darzustellen.
- b) Unter der Annahme, daß der Streß des Experimentes über eine Aldosteronausschüttung den tepd-Anstieg induziert, muß bei jeder Untersuchung von Na-Transportprozessen in vivo dieser Umstand berücksichtigt werden.

Versuche von Lennane et al. (46) am Kaninchen haben gezeigt, daß beim Anfassen und Herumhantieren ("Handling and Wrapping") mit dem wachen Tier dieses mit einem tepd-Anstieg reagiert. Allerdings trat dieser Anstieg beim Kaninchen auch noch nach Adrenalektomie auf. Da Ratten nach Adrenalektomie unter keinen Umständen mehr einen rectalen tepd-Anstieg zeigen, muß eine bei beiden Tierarten unterschiedliche Auslösung des Potentialanstieges diskutiert werden.

4.4. Instillations-/Perfusionslösungen (Versuchstyp 3)

Bei allen Instillations- und Perfusionsversuchen waren die Versuchsbedingungen insofern unphysiologisch, als die verwendeten Lösungen nicht die Na^+ -Konzentration besaßen, die normalerweise in den faeces der Ratte vorhanden ist [physiologisch: $50 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, nach Edmonds (16)]. Daraus ergab sich die Frage, ob die Fähigkeit zur Ausbildung einer hohen tepd durch das gesteigerte luminale Na^+ -Angebot erst allmählich induziert wird, ob eine solche Induktion unabhängig von der luminalen Na^+ -Konzentration zum Beispiel durch Aldosteron

erfolgt, oder ob eine Induktion sofort dann stattfindet, wenn Na^+ angeboten wird. Die letztgenannte Möglichkeit entfällt, da die tepd zu Versuchsbeginn trotz hoher Na^+ -Konzentration niedrig war (Abb. 3). Eine allmähliche Induktion der tepd hätte bei den Versuchen mit anfänglicher Cholinchlorid-Instillation (Kollektiv A, Abb. 3) nach Angebot von Na^+ das Potential langsam steigen lassen. Da aber ein sofort einsetzender Potentialsprung sowohl bei Na^+ -vorbehandelten als auch nicht Na^+ -vorbehandelten Tieren beobachtet wurde (Abb. 3, Tab. 4), dessen Höhe nicht signifikant variierte, erscheint die zweitgenannte Möglichkeit wahrscheinlich. Die Ergebnisse zeigen, daß die Fähigkeit zur Ausbildung einer hohen tepd auch in Abwesenheit von lumenalem Na^+ in typischer Weise auftrat.

Aus dem Verlauf der tepd ist zu schließen, daß die Entwicklung eines tepd-Anstieges an die Anwesenheit von NaCl gebunden ist. Andere Autoren haben an der Ratte (17), an der Froschhaut (44) und am menschlichen Rectum (11, 18) gezeigt, daß hohe Potentialdifferenzen (> 10 mV) durch Senkung der Na^+ -Konzentration reduziert wurden.

Es ist bekannt, daß an der Niere die Aktivität der Na^+ - K^+ -abhängigen ATPase einen empfindlichen Parameter für Aldosteronkonzentrationen darstellt (5, 40, 43, 45). Untersuchungen dieses Enzyms am Colonepithel der Ratte zeigten, daß bei Normalratten nach Aldosterongaben trotz angestiegener tepd kein Aktivitätsanstieg der ATPase zu beobachten war (55). Es scheint demnach, daß die Wirkung von Aldosteron auf den tepd-Anstieg am Rectum nicht akut über eine Steigerung

der $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ -Aktivität erreicht wird, sondern über einen Mechanismus, der ohne eine solche Aktivitätserhöhung einhergeht. Nach den bei diesen Versuchen gewonnenen Ergebnissen scheint eine Aktivierung von epithelialen Transportprozessen wahrscheinlich durch Aldosteron stattgefunden zu haben, dessen Entstehen durch die kurzzeitige Instillation isotoner Kochsalzlösung nicht beeinflusst wird, da ein Potentialsprung zu Beginn des Versuches bei NaCl-Spülung nicht zu beobachten war.

Eine Induktionswirkung isotoner NaCl-Lösung ist somit unwahrscheinlich.

Die bei den Perfusionsversuchen benutzte Ringer-Lösung enthielt außer Na^+ und Cl^- noch K^+ und HCO_3^- . Theoretisch besteht auch die Möglichkeit, daß diese Elektrolyte die tepd beeinflussen. Jedoch konnte gezeigt werden (11, 23), daß K^+ in intraluminalen Konzentrationen von 0 - 40 mmol $\cdot \text{l}^{-1}$ keinen Einfluß auf die tepd hat.

4.5. Langzeitversuche (Versuchstyp 4)

Die bei der Beobachtung der wachen Ratte im Langzeitversuch gewonnenen Ergebnisse zeigen, daß es sich beim tepd-Anstieg nicht um ein ausschließlich narkose-gekoppeltes oder durch größere operative Eingriffe bedingtes pathologisches Phänomen handeln kann. Denn es kommt - wie hier erstmals beobachtet - im Wachzustand spontan sowohl zum Ansteigen als auch zum Absinken der erhöhten tepd. Im Gegensatz zu Versuchen

am wachen Kaninchen (46) dauerte die Plateauphase bei den wachen Ratten sehr viel länger. Vielleicht hängt das damit zusammen, daß möglicherweise die Potentialanstiege bei beiden Spezies durch unterschiedliche biologische Halbwertszeiten der auslösenden Faktoren bewirkt werden.

Befunde von Thompson und Edmonds (54), nach denen Ratten nachts die dreifache Menge Na^+ mit dem Urin ausscheiden wie tagsüber, hätten nahegelegt, tagesrhythmische Variationen des Na-Transportes eventuell auch am Darm zu finden. Es ließen sich jedoch in den vorliegenden Experimenten keine Zuordnungen von tepd -Höhe zu Schlaf-Wach-Phasen herstellen. Damit unterliegt der elektrogene Na-Transport am Rectum offenbar keiner Tagesrhythmik. Das schließt allerdings nicht aus, daß sich elektroneutrale Transport-Komponenten doch verändern.

Auf die beobachtete elektrische "Peristaltik", die bei diesen Versuchen während der Schlafphasen besonders ausgeprägt war, hat auch schon Edmonds (17) hingewiesen. Eine Erklärung könnte in einer während der Schlafphasen gesteigerten Aktivität der vegetativen Innervation liegen.

4.6. Bestimmung des transepithelialen Widerstandes

4.6.1. Methode

Bei Untersuchungen zur Widerstandsbestimmung am Darm wurde bisher mit Gleichstrom gearbeitet, der in Form eines definierten Stromes oder durch eine definierte Spannungsänderung

über dem Epithel einen Widerstand ermitteln ließ.

Einige Ergebnisse lassen vermuten, daß bei der Anwendung von Gleichstrom in Form einer voltage-clamp-Anordnung die Epitheleigenschaften verändert werden. So stellte Edmonds (22) fest, daß bei Clamp-Versuchen am Rattencolon in vivo der Kurzschlußstrom innerhalb von 8 min abfällt. In derselben Arbeit wurde auch gezeigt, daß sich nach Ausschalten des Kurzschlußstromes nicht die ursprünglich gemessenen tepd-Werte einstellten, ein Verhalten, auf das auch schon Cooperstein und Hogben (8) hingewiesen hatten. Diese Autoren hatten außerdem eine Veränderung der Na-Absorption unter Kurzschluß-Bedingungen nachgewiesen, die nicht allein durch den Wegfall der passiven Transportkomponente erklärt werden konnte.

Die beschriebene Methode der Widerstandsbestimmung am Darm mit Wechselstrom wurde nicht unter dem Anspruch durchgeführt, genaue Absolutwerte für den transepithelialen Widerstand zu erhalten, sondern zu entscheiden, ob der Anstieg der tepd durch eine Widerstandsänderung des Epithels bedingt sein könnte. Widerstandsbestimmungen an Epithelien mit Wechselstrom wurden in vitro bereits mehrfach durchgeführt (39).

Bei der beschriebenen 6-Elektrodenanordnung ($2 \tilde{U}$, $2 \tilde{I}$, zwei Gleichspannungselektroden) sind folgende Fragestellungen zu diskutieren:

- a) Beeinflußt der zur Widerstandsmessung eingespeiste Wechselstrom den tepd-Anstieg?
- b) Welcher Anteil des Spannungsabfalles entspricht der Lösung, welcher dem zu messenden Epithel?

c) Welche Unsicherheiten bestehen beim Rückschluß aus dem gemessenen Gesamtwiderstand auf den spezifischen Epithelwiderstand?

Zu a) In den durchgeführten Versuchen konnte gezeigt werden, daß die Anwendung von Wechselstrom beschriebener Charakteristik keine Auswirkung auf den tepd-Anstieg hatte. Abb. 10 zeigt zwei Versuche des Versuchstyps 5 ("Leitfähigkeit"). Kurve B zeigt den zeitlichen tepd-Verlauf bei kontinuierlicher Messung mit Wechselstrom, während in Kurve A der Wechselstrom nur in den beiden gekennzeichneten Intervallen floß. Zwischen beiden Versuchen ist kein prinzipieller Unterschied im tepd-Verhalten sichtbar, weder in Perioden mit Wechselstrom, noch in solchen ohne, noch im Gesamtverlauf, der sich im übrigen auch nicht von den Experimenten ohne jede Wechselstromanwendung (Abb. 1) unterschied.

Auch die Stromdichte von $65 \mu A_{eff} \cdot cm^{-2}$ lag unter der von anderen Autoren verwendeten Gleichstromdichte, die größenordnungsmäßig bei $150 \mu A \cdot cm^{-2}$ lag, ohne daß nachweisbare Schädigungen des Epithels hervorgerufen wurden.

Zu b) Der Potentialverlauf zwischen den beiden Wechselspannungselektroden (E_3 , E_4) ist proportional dem Gesamtwiderstand des Materials zwischen ihnen. Dabei lassen sich zwei Anteile unterscheiden:

1. Epithel

2. Lösung

Der Widerstandsanteil der Lösung ergibt sich folgendermaßen:

$$R_{spez}^{Lös} = \rho \cdot d$$

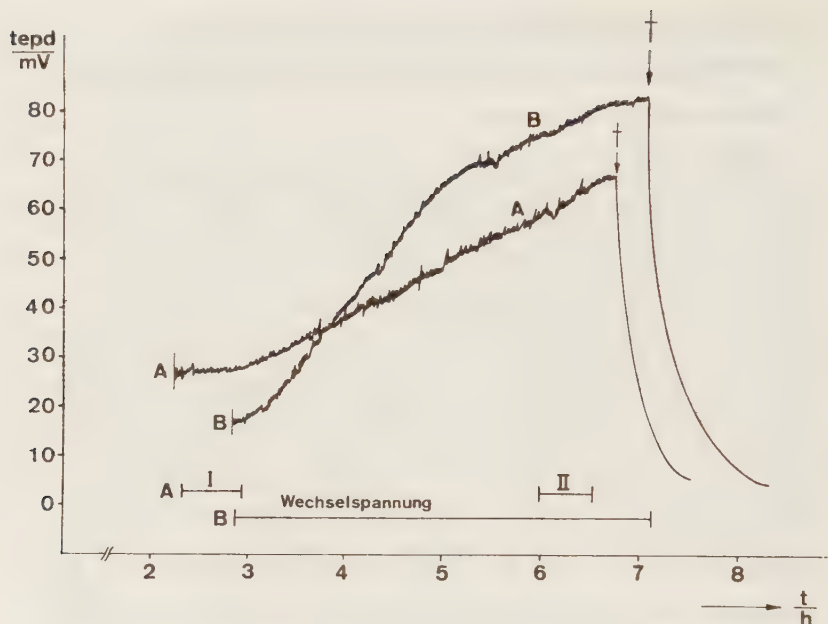


Abb. 10: Vergleich des tepd-Anstiegs bei zwei Einzelversuchen des Versuchstyps 5, bei denen die Wechselspannung zeitlich variiert wurde.

A: Anwendung von Wechselspannung nur während Intervall I und II

B: Anwendung von Wechselspannung während des gesamten Versuchszeitraumes

ρ : spezifischer Volumenwiderstand der Lösung

$$\rho_{\text{Ringer}}^{37^\circ \text{C}} = 60 \, \Omega \cdot \text{cm}$$

d: Schichtdicke

$$d(E_3 - E_4) = 0,1 \text{ cm (aus Messung mit dem Okularmikrometer)}$$

$$R_{\text{spez}}^{\text{Lös}} = 60 \cdot 0,1 = 6 \, [\Omega \cdot \text{cm}^2]$$

Das heißt, die zwischen E_3 und E_4 beidseits des Epithels gelegene Flüssigkeitsschicht von ca. 1 mm Dicke besaß einen Widerstand von ca. $6 \, \Omega \cdot \text{cm}^2$. Das ist mit dem Epithelwiderstand zu vergleichen, der in der Größenordnung von $90 \, \Omega \cdot \text{cm}^2$ lag (vgl. S. 42).

Damit wären die in dieser Arbeit angegebenen absoluten Epithelwiderstandswerte um den jeweiligen Anteil der Lösung zu korrigieren.¹⁾ Wegen der Kleinheit der Korrektur und der Unsicherheit der Absolutwerte wurde jedoch - wie bei anderen Autoren (4, 22, 25) - darauf verzichtet. Experimentell wurde nach Versuchsende das Epithel eingeschnitten und ein Widerstand zwischen 2 und $5 \, \Omega$ ermittelt, was einer Übereinstimmung von Meßwert und Schätzung entspricht.

Zu c) Für die Berechnung des Absolutwertes des spezifischen epithelialen Flächenwiderstandes ist die Kenntnis der vom Wechselstrom durchflossenen Darmfläche notwendig. Diese ist jedoch deswegen mit Ungenauigkeit behaftet, weil nicht bekannt ist, wie stark das Epithel im aktuellen Experiment gedehnt, bzw. gefältelt war. Da im Verlauf eines Experiments jedoch diejenigen Parameter, die diese Unsicherheiten bedingen, als konstant angenommen werden können, konnten Änderungen

1) Dieses würde einer Verminderung der Mittelwerte in Tab. 5 für R_{spez} um $6 \, \Omega \cdot \text{cm}^2$ entsprechen

des Widerstandes mit sehr viel größerer Genauigkeit festgestellt werden.

Tab. 7 zeigt von anderen Autoren gemessene spezifische Flächenwiderstände am Gastrointestinaltrakt. Dabei ist sichtbar, daß einerseits die einzelnen Darmabschnitte unterschiedliche Widerstände zeigen, andererseits die Werte für einen bestimmten Abschnitt (z.B. Colon descendens) stark vom benutzten Versuchsaufbau und von der Temperatur abhängen. So beobachteten Edmonds und Marriott (22) in vitro bei 12° C einen spezifischen Epithelwiderstand von 158 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ und bei 32° C von 108 $\Omega \cdot \text{cm}^2$. In vivo-Messungen mit Gleichstrom am Colon descendens der Ratte zeigten jedoch durchweg höhere Meßergebnisse, welche um 145 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ lagen. Es ist nicht geklärt, ob die von den vorliegenden Messungen abweichenden Ergebnisse durch die Verwendung von Gleichstrom oder durch andere Faktoren, z.B. eine Schädigung des Epithels bei in vitro-Versuchen, verursacht sind. Wegen der fehlenden Standardisierung des Versuchsaufbaus ist ein Vergleich der gemessenen Widerstände problematisch.

4.6.2. Ergebnisse

Nach ihrem verhältnismäßig niedrigen elektrischen Widerstand scheinen das Colon und Rectum der Ratte zur Gruppe der durchlässigen ("leaky") Epithelien zu gehören,¹⁾ bei denen es nach Studien von Clarkson (6) sowie Frizzell und Schultz (34) zwei parallele Transportwege für Na^+ zu geben scheint, die aus einem parazellulären und einem transzellulären Weg bestehen. Dabei verteilen sich die Widerstände dieser beiden Wege, wie in Abb. 11 dargestellt.

Bei der Gruppe der "leaky"-Epithelien ist der transzelluläre Widerstand R_t groß im Verhältnis zum parazellulären Wider-

1) Das Rectumepithel sollte auf Grund der hohen tepd eher als "mitteldicht" bezeichnet werden

Tabelle 7: Von anderen Autoren gemessene Widerstandswerte
am Intestinaltrakt

gemessener Darmabschnitt	spez. Widerstand [$\Omega \cdot \text{cm}^2$]	Veröffentlichungen
Rectum (Ratte) in vivo	90 (37° C)	eigene Messung
Col. desc. (Ratte) in vivo	154 (37° C)	Edmonds u. Marriott, 1970(22)
Col. desc. (Ratte) in vivo	145-155(37°C)	Levens et al., 1975 (47)
Col. desc. (Ratte) in vivo	145 (37° C)	Dolman et al., 1976 (15)
Col. desc. (Ratte) in vitro	108 (32° C)	Edmonds u. Marriott, 1968(22)
Col. desc. (Ratte) in vitro	136 (22° C)	" " " " "
Col. desc. (Ratte) in vitro	158 (12° C)	" " " " "
Jejunum (Ratte) in vitro	66 (22° C)	Asano, 1964 (1)
Jejunum (Ratte) in vitro	30 (22° C)	Barry et al., 1965 (4)
Jejunum (Ratte) in vitro	99 (37° C)	Feldman et al., 1975 (32)
Col.desc. (Frosch) in vitro	300 (22° C)	Cooperstein u.Hogben, 1959(8)
Colon (Kaninchen) in vitro	265 (37° C)	Schultz et al., 1977 (52)

stand R_p . Aus diesen Gründen wird eine Messung der beschriebenen Art nur Rückschlüsse auf den parazellulären Weg zulassen, denn:

$$\frac{1}{R_{\text{ges}}} = \frac{1}{R_p} + \frac{1}{R_t}$$

R_{ges} = spezifischer Gesamtwiderstand

R_p = spezifischer parazellulärer Widerstand

R_t = spezifischer transzellulärer Widerstand,

woraus für $R_t \gg R_p$ folgt:

$$\frac{1}{R_{\text{ges}}} \approx \frac{1}{R_p}$$

$$R_{\text{ges}} \approx R_p$$

Das bedeutet, man bestimmt fast ausschließlich den parazellulären Widerstand. Der aktive Transport von Na scheint hingegen über den transzellulären Weg vermittelt zu werden (56). Falls unter Aldosteron eine Änderung des elektrischen Epithelwiderstandes aufträte, wäre sie daher nur durch Wirkung auf den parazellulären Weg erklärbar. Edmonds (22) hat beobachtet, daß der spezifische Epithelwiderstand am Colon descendens der Ratte bei Na-Verarmung der Versuchstiere, also erhöhtem Aldosteron, signifikant niedriger ist als bei Normaltieren. Ebenso hat Gutsche (38a) am proximalen Tubulus der Ratte gezeigt, daß der Gesamtwiderstand des Shuntweges dieses durchlässigen Epithels durch Aldosteron verringert wird. Allerdings demonstrierten Coffré und Crabbé (7) im Gegensatz dazu am Krötencolon, daß unter Aldosterongaben die tepd stärker anstieg, als nach Anstieg des Kurzschlußstromes

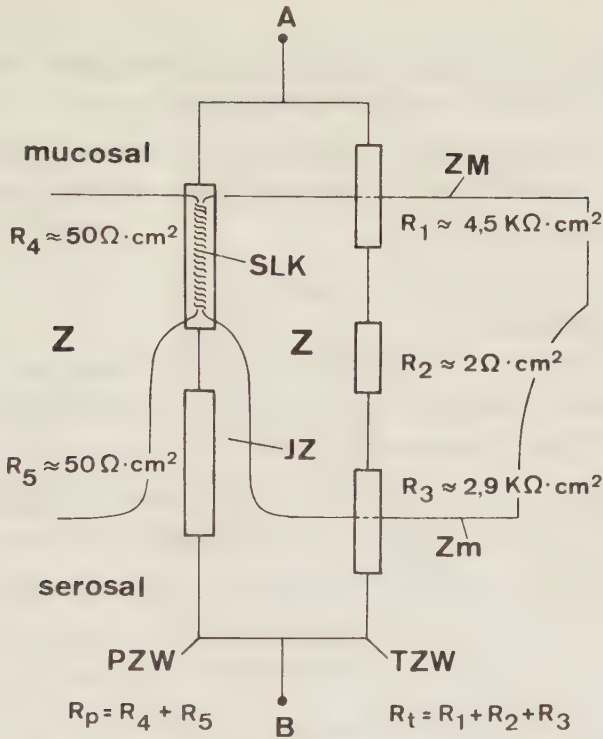


Abb. 11: Annähernde Verteilung der spezifischen Flächenwiderstände in einem "leaky"-Epithel

Die eingetragenen Widerstandswerte wurden von Frömter (35) für die Necturus-Gallenblase angegeben.

Vom Colon des Kaninchens ist nur bekannt, daß

$$\frac{R_{\text{mucosal}}}{R_{\text{serosal}}} \approx \frac{R_1}{R_2} = 0,2 \quad [\text{nach Schultz et al. (52)}]$$

JZ: Interzellularspalt

SLK: Schlusleistenkomplex, bestehend aus Zonula occludens und Zonula adhaerens

PZW: Parazellulärer Weg

TZW: Transzellulärer Weg

R_p : spezifischer parazellulärer Widerstand

R_t : spezifischer transzellulärer Widerstand

Z: Epithelzelle

ZM: Zellmembran

zu erwarten war, so daß eine Widerstandserhöhung unter Aldosteron annahm. Nach den bei den vorliegenden Experimenten gewonnenen Resultaten wird der tepd -Anstieg an Natriurectum jedenfalls nicht über eine paracelluläre Widerstandsänderung hervorgerufen.

5. Zusammenfassung

Die in der Einleitung formulierten Fragestellungen werden auf Grund der experimentellen Resultate der vorliegenden Arbeit wie folgt beantwortet:

- a) Der Anstieg der tepd ist kein nur in Narkose auftretendes Phänomen, sondern ist auch bei der wachen Ratte unter an nähernd physiologischen Bedingungen zu beobachten.
- b) Unter experimentellen Bedingungen spielt der Narkosestoff bei der tepd -Entstehung vermutlich die entscheidende Rolle.
- c) Veränderungen des Na K-Quotienten im Urin laufen mit dem Anstieg der tepd parallel. Dieser Befund spricht zusammen mit dem der gleichen Intensität für beide Phänomene dafür, daß Aldosteron an der Ausbildung der tepd ursächlich beteiligt ist.
- d) Die Ausbildung der Potens, eine hohe tepd zu erzeugen, ist nicht vom Na^+ in der luminalen Flüssigkeit abhängig.
- e) Der Anstieg der tepd scheint nicht durch einen Ausstieg des transepithelialen Widerstandes verursacht zu sein.

6. Literaturverzeichnis

1. Asano, T. Metabolic disturbances and short-circuit-current across intestinal wall of rat. *Am.J. Physiol.* 208, 415 - 422 (1964)
2. Ayres, P.S.
O. Garrod
S.A.S. Tait
J.E. Tait
W.M. Pearlman The use of $16\text{-}^3\text{H}$ -aldosterone in studies of human peripheral blood. *Ciba Fdn. Colloq. Endocr.* 11, 309 - 326 (1957)
3. Baillien, M.
E.Schoffeniels Origène des potentiels, bioélectriques de l'épithélium intestinal de la tortue grecque. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* 53, 537 - 548 (1961)
4. Barry, R.J.C.
D.H. Smyth
E.M. Wright Short-circuit current and solute transfer by rat jejunum. *J. Physiol.* 181, 410 - 431 (1965)
5. Chignell, C.F.
E. Titus Effect of adrenal steroids on a Na^+ - and K^+ -requiring adenosine triphosphatase from rat kidney. *J. biol. chem.* 241, 5083 - 5089 (1966)
6. Clarkson, T.W. The transport of salt and water across isolated rat ileum. Evidence for at least two distinct pathways. *J. gen. Physiol.* 50, 695 - 727 (1967)
7. Coffré, G.
J. Crabbé Active sodium transport by the colon of *Bufo marinus*: Stimulations by aldosterone and antidiuretic hormone. *J. Physiol.* 188, 177 - 190 (1967)
8. Cooperstein, J.L.
C.A.M. Hogben Ionic transfer across the isolated frog large intestine. *J. gen. Physiol.* 42, 461 - 473 (1959)
9. Crocker, A.D.
K.A. Munday The effect of the renin-angiotensin-system on mucosal water and sodium transfer in everted sacs of rat jejunum. *J. Physiol.* 206, 323 - 333 (1970)
10. Curran, P.F.
C.F. Schwartz Na, Cl and water transport by rat colon. *J. gen. Physiol.* 129, 176 - 181 (1960)
11. Dalmark, M. The transmucosal potential difference across the human rectum in vivo following perfusion of different electrolyt solutions. *Scand. J. Gastroent.* 5, 421 - 426 (1970)
12. Dalmark, M. The transmucosal electrical potential difference of rectum in the unaesthetized man. *Scand. J. Gastroent.* 5, 277-282 (1970)

13. Davies, N.T.
K.A. Munday
B.J. Parsons The effect of angiotensin on rat intestine fluid transfer.
J. Endocr. 48, 39 - 46 (1970)
14. Dolman, D.
C.J. Edmonds The effect of aldosterone and the renin-angiotensin-system on sodium-, potassium- and chloride-transport by proximal and distal rat colon in vivo.
J. Physiol. 250, 597 - 611 (1971)
15. Dolman, P.
C.J. Edmonds
C. Salas-Coll Effect of aldosterone on lithium permeability of rat colon mucosa.
J. Endocr. 70, 135 - 140 (1976)
16. Edmonds, C.J. The gradient of electrical potential difference and of sodium and potassium of the gut contents along the caecum and colon of normal and sodium depleted rats.
J. Physiol. 193, 571 - 588 (1967)
17. Edmonds, C.J. Transport of sodium and secretion of potassium and bicarbonate by the colon of normal and sodium depleted rats.
J. Physiol. 193, 589 - 602 (1967)
18. Edmonds, C.J. Absorption of sodium and water by human rectum measured by a dialysis method.
Gut 12, 356 - 362 (1971)
19. Edmonds, C.J. Unpublished Observations in: Effects of aldosterone on the colon,
J.W.L. Robinson, Intestinal Ion Transport MTP. (1976)
20. Edmonds, C.J.
R.C. Godfrey Measurement of electrical potential of human rectum and pelvic colon in normal and aldosterone treated patients.
Gut 11, 330 - 337 (1970)
21. Edmonds, C.J.
J.M. Marriott The effect of aldosterone and adrenalectomy on the potential difference of rat colon and on the transport of sodium, potassium, chloride and bicarbonate.
J. Endocr. 39, 517 - 531 (1967)
22. Edmonds, C.J.
J.M. Marriott Electrical potential and short-circuit current of an in vitro preparation of rat colon mucosa.
J. Physiol. 194, 479 - 494 (1968)
23. Edmonds, C.J.
J.C. Marriott Factors influencing the electrical potential across the mucosa of rat colon.
J. Physiol. 194, 457 - 478 (1968)
24. Edmonds, C.J.
J.M. Marriott The effect of aldosterone on the electrical activity of rat colon.
J. Endocr. 44, 363 - 377 (1969)

25. Edmonds, C.J. Sodium transport and short-circuit current in rat colon in vivo and the effect of aldosterone.
J. Physiol. 210, 1021 - 1039 (1970)
26. Edmonds, C.J. Transmembrane electrical potential differences and ionic compositions of mucosal cells of rat colon.
Acta physiol. scand. 72, 338 - 349 (1968)
27. Edmonds, C.J.
D. Pilcher Electrical potential difference and sodium and potassium fluxes across rectal mucosa in ulcerative colitis.
Gut 14, 784 - 789 (1973)
28. Edmonds, C.J.
P. Richards Measurement of rectal electrical potential difference as an instant screening test for hyperaldosteronism.
Lancet 2, 624 - 627 (1970)
29. Edmonds, C.J.
B.D. Thompson
J.C. Marriott Interrelationship of the effects of aldosterone and thyroid hormones on sodium transport and electrical properties of rat colon.
J. Endocr. 48, 189 - 197 (1970)
30. Efstratopoulos, A.D.
W.S. Peart Effect of single and combined infusions of angiotensin II and aldosterone on colonic potential difference, blood pressure and renal function in patients with renal deficiency.
Clin. Sci. Molec. Med. 48, 219 - 226 (1975)
31. Efstratopoulos, A.D.
W.S. Peart
G.A. Wilson The effect of aldosterone on colonic potential difference and renal electrolyt excretion in normal man.
Clin. Sci. Molec. Med. 46, 489 - 499 (1974)
32. Feldman, D.S.
S. Rabinovitch
E.B. Feldman Surfactants and bioelectric properties of rat jejunum.
Am. J. dig. Dis. 20, 2, 866 - 870 (1975)
33. Fimognari, G.M.
D.D. Fanestil
I.E. Edelman Induction of RNA and protein synthesis in the action of aldosterone in the rat.
Am. J. Physiol. 213, 954 - 963 (1967)
34. Frizzell, R.A. Ionic conductances of extracellular shunt pathway in rabbit ileum.
J. gen. Physiol. 59, 318 - 346 (1972)
35. Frömter, E.
J. Diamond Route of passive ion-permeation in epithelia.
Nat. New. Biol. 235, 9 - 13 (1972)
36. Fromm, M. Longitudinale Heterogenität des epithelialen Transports am Dickdarm der Ratte
Dissertation, FU Berlin, 1978

37. Ganong, W.F.
P.J. Murrow
Rate of change in sodium and potassium excretion after injection of aldosterone into the aorta and renal artery of the dog.
Am. J. Physiol. 195, 337 - 342 (1958)
38. Geall, M.G.
R.J. Spencer
S.F. Philipps
Transmural electric potential difference of the human colon.
Gut 10, 921 - 923 (1969)
- 38a. Gutsche, H.-U.
Wirkung von Adrenalectomie auf den passiven Ioneneinstrom in das proximale Konvolut der Rattenniere.
Dissertation, FU Berlin, 1974
- 38b. Gulden, W.J.I. van der
C.L. Hooijdonk
P. de Jong
A.K. Kremer
Versuchstiere und Versuchstiertechnik.
Gesellschaft für Versuchstierkunde, Basel 1975
39. Hegel, U.
AC-analysis of transporting epithelia; in: Diuretics in Research and Clinics. Siegenthaler et al. edits.
G. Thieme, Stuttgart (1977)
40. Hendler, E.D.
J. Toretti
L. Kupor
F.H. Epstein
Effects of adrenalectomy and hormone replacement on Na-K-ATPase in renal tissue.
Am. J. Physiol. 222, 754 - 760 (1972)
41. Hierholzer, K.
H. Stolte
The proximal and distal tubular action of adrenal steroids on Na reabsorption.
Nephron 6, 188 - 204 (1969)
42. Hornyh, A.P.
P. Meyer
P. Milliez
Angiotensin II, vasopressin and cyclic AMP effects on sodium and water fluxes in rat colon.
Am. J. Physiol. 224, 1223 - 1229 (1973)
43. Jorgensen, P.L.
I. Regulation of the ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-activated ATP-hydrolyzing enzyme system in rat-kidney
II. The effects of aldosterone on the activity in kidneys of adrenalectomized rats.
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 192, 326 - 334 (1969)
44. Koefold-Johnsen, V.
H.H. Ussing
The nature of the frog skin potential.
Acta physiol. scand. 42, 298 - 308 (1958)
45. Landon, E.J.
N. Jacob
L. Forte
Aldosterone and sodium-potassium-dependent ATPase activity of rat kidney membranes.
Am. J. Physiol. 211, 1050 - 1056 (1966)
46. Lennane, R.J.
W.S. Peart
J. Shaw
Adrenergic influences on the electrical potential across the colonic mucosa of the rabbit.
J. Physiol. 250, 367 - 372 (1975)

47. Levens, N.R.
K.A. Munday
B. York
Effect of angiotensin II on fluid transport, transmural potential difference and resistance in the rat distal colon in vivo.
J. Endocr. 67, 64 - 65 (1975)
48. Ludens, J.H.
J.B. Hook
H.E. Williamson
Lack of effect of actinomycin D on aldosterone induced antinatriuresis when administered after the hormone.
Proc.Soc. exp. Biol. Med. 124, 539 - 541 (1967)
49. Morris, D.J.
R.P. Davis
Aldosterone: Current concepts.
Metabolism 23, 473 - 494 (1974)
50. Rask-Madsen, J.
P.C. Baastrup
M. Schwarz
Lithium induced hyperpolarisation of the human rectum in vivo.
Brit. med. J. 2, 496 - 498 (1972)
51. Schultz, S.G.
Electrical potential differences and electromotive forces in epithelial tissue.
J. gen. Physiol. 59, 794 - 798 (1972)
52. Schultz, S.G.
R.A. Frizzell
H.N. Nellans
Active sodium transport and the electrophysiology of rabbit colon.
J. Membr. Biol. 33, 351 - 384 (1977)
53. Schwitzer, E.J.
G.W. Hepner
C.R. Rose
Effect of bile acids on electrical properties of rat colon.
Evaluation of an in vitro model for secretion.
Gut 16, 477 - 481 (1975)
54. Thompson, B.D.
C.J. Edmonds
Comparison of effects of prolonged aldosterone administration on rat colon and renal electrolyte excretion.
J. Endocr. 50, 163 - 169 (1971)
55. Thompson, B.D.
C.J. Edmonds
Aldosterone, sodium depletion and hypothyroidism on the ATPase activity of the rat colonic epithelium.
J. Endocr. 62, 489 - 496 (1974)
56. Ussing, H.H.
K. Zerahn
Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin.
Acta physiol. scand. 23, 110 - 127 (1951)
57. Wiederholt, M.
C. Behn
W. Schoormans
L. Hansen
Effect of aldosterone on sodium and potassium transport in the kidney.
J. Steroid. Biochem. 3, 151 - 159 (1972)

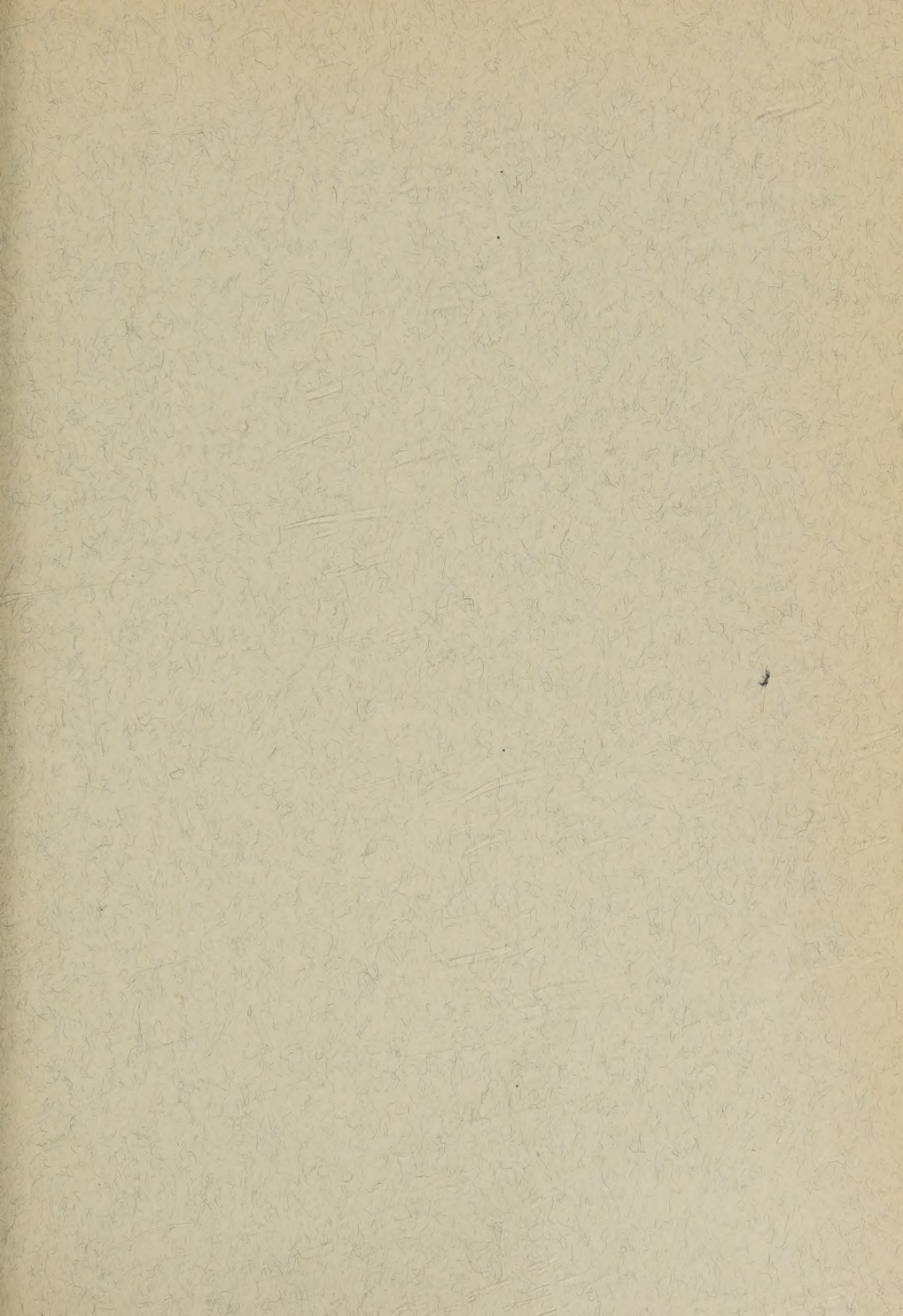
An dieser Stelle danke ich Herrn Prof.Dr.med.Dr.rer.nat. U. Hegel, der durch die Vergabe des Dissertationsthemas, seine dauernde Diskussionsbereitschaft und hilfreiche Anleitung diese Arbeit erst ermöglicht hat. Durch seine stete, kritische Anteilnahme wurde sie in jeder Phase ihrer Entstehung gefördert und wesentlich mitbestimmt.

Besonderer Dank gilt auch Herrn Dr.med. Michael Fromm, der durch seine außerordentliche Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Versuche, seine Anregungen und seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung einen großen Anteil am Zustandekommen dieser Arbeit hat.

Ich danke auch Frau Sieglinde Lüderitz, die bei den Experimenten half, Frau Jutta Konheiser, die mich bei der Ausführung der Zeichnungen unterstützte sowie Frau Helena Polten, die das Manuskript schrieb.

Lebenslauf

Am 7.7. 1952 wurde ich, Karsten Eduard Krochmann, in Berlin geboren. Meine Eltern sind der Prof. Dr.-Ing. Jürgen Krochmann und seine Frau Ingrid. Von 1959 - 1961 besuchte ich die Erwin-von-Witzleben-Grundschule in Berlin-Charlottenburg, anschließend bis 1965 die Steubenschule in Berlin-Charlottenburg und von 1965 - 1966 den neusprachlichen Zweig des Erich-Hoepner-Gymnasiums in Berlin-Charlottenburg. 1966 - 1967 besuchte ich die Calvin-Coolidge-High-School in Boston, Mass., USA und von 1967 - 1972 wiederum das Erich-Hoepner-Gymnasium. Die Reifeprüfung legte ich im März 1972 ab. Anschließend studierte ich Humanmedizin an der Freien Universität Berlin. Im März 1977 bestand ich den II. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Das Praktische Jahr verbrachte ich zunächst in der Neurologischen Abteilung des Klinikums Westend (Prof. Janz), dann in der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Moabit (Prof. Bayer) und anschließend in der I. Chirurgischen Abteilung im selben Haus (Prof. Geisler). Den III. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand ich im April 1978. Die Approbation als Arzt erhielt ich im Mai 1978.



DISSERTATIONS-DRUCK WALTER MONATH
Wichurastr. 58c Tel. 030/775 47 76/77 1 Berlin 46